

戦略的創造研究推進事業
発展研究 (SORST)

研究終了報告書

研究課題

「1次元分子認識システムを応用した
多糖系遺伝子マニピュレーターの創製」

研究期間：平成14年 4月 1日～
平成19年 3月31日

新海 征治
(九州大学、教授)

「1次元分子認識システムを応用した 多糖系遺伝子マニピュレーターの創製」

本 編

(目 次)

1 研究概要	3
2 多糖・核酸複合体の創製と遺伝子デリバリーへの応用	6
2.1 多糖・核酸複合体の発見と基本性状	6
2.1.1 β -1,3-グルカンの3重螺旋の解離と再生	6
2.1.2 再生過程における核酸との複合化の発見	6
2.1.3 複合体の基本性状解析の目的	7
2.2 多糖・核酸複合体の基本性状	8
2.2.1 β -1,3-グルカンの普遍的な性質	8
2.2.2 核酸選択性	8
2.2.3 解離挙動の DNA 2重鎖との類似性	8
2.3 多糖・核酸複合体の分子構造	9
2.3.1 化学量論比	9
2.3.2 β -1,3-グルカンの水素結合の再検討	9
2.3.3 複合体の分子構造	10
2.3.4 電子顕微鏡観察等	11
2.4 多糖の精密化学修飾の検討	12
2.4.1 側鎖への化学修飾	12
2.5 アンチセンス DDS への応用	13
2.5.1 インビトロ試験	13
2.5.2 インビボ試験への挑戦	16
2.6 CpG DNA の DDS への応用	19
2.6.1 CpG DNA について	19
2.6.2 インビトロでの試験	20
3 プラスミド DNA デリバリーへの展開	22
3.1 pDNA の DDS への期待と課題	22
3.2 カチオン化 SPG を用いた遺伝子デリバリー	23

3.3 天然ポリアミンを用いた遺伝子デリバリー	26
3.4 デュアルリガンドを用いた遺伝子デリバリー	29
3.5 核内移行因子を用いた遺伝子デリバリー	32
3.6 刺激応答性の遺伝子キャリヤー	34
4 メッセンジャー-RNA 分離システムの開発	38
4.1 mRNA 分離システム開発の目標	38
4.2 SPG アフィニティカラムによる核酸の分離	39
4.2.1 s-SPG カラムの調製	39
4.2.2 s-SPG カラムによる均一塩基組成 RNA の溶出挙動	39
4.2.3 s-SPG カラムにおける mRNA の溶出挙動と分離抽出への応用	40
4.3 フィルター分離法による mRNA の分離抽出	41
4.4 固相抽出カラムによる新規 mRNA 分離法(C18 法)について	41
4.5 製品化に向けての取組み	42
5 β -1,3-グルカンを1次元ホストとするナノ材料の創製	43
5.1 はじめに	43
5.2 多糖／核酸複合体から多糖／合成高分子複合体への展開	44
5.2.1 β -1,3-グルカンの1次元ホスト機能の発見	44
5.2.2 β -1,3-グルカン／SWNT 複合体の形成	45
5.3 β -1,3-グルカン／機能性高分子複合体：多糖被覆ナノワイヤーの創製	47
5.3.1 β -1,3-グルカン／ポリアニリン複合体の形成	47
5.3.2 β -1,3-グルカン／ポリチオフェン複合体の形成	47
5.3.3 β -1,3-グルカン／フェニレンエチレン複合体の形成	49
5.3.4 β -1,3-グルカン／ポリシラン複合体の形成	49
5.3.5 β -1,3-グルカン／機能性色素複合体の形成	51
5.3.6 β -1,3-グルカンを1次元ホストとした無機ナノ粒子の1次元組織化	52
5.3.7 1次元ホストから1次元反応場へ	54
5.3.8 β -1,3-グルカンのラッピング特性を利用した超分子ブロックポリマーの創製	56
5.3.9 SPG およびカードランへの化学修飾	58
5.3.10 クリックケミストリーによる β -1,3-グルカン鎖の合成とそのホスト機能の探索	59
5.3.11 β -1,3-グルカン／機能性高分子複合体のバイオ・ナノ材料としての応用研究	60

1 研究概要

[研究代表者 九州大学大学院・工学研究院 新海 征治]

本プロジェクトに先立つ国際共同研究 (ICORP) 「分子転写プロジェクト」においては、水中における単糖やオリゴ糖の分子認識が、研究テーマの柱のひとつになっていた。それは、「糖質」は「タンパク質」、「脂質」と並んで生体由来物質として重要であるにも関わらず、人工的にはその認識手法がほとんどなかったからである。自然界は糖分子を結合するために、水素結合をベースとする多点相互作用を利用している。しかし、水中においては強力な水分子による溶媒和のために、糖分子と有効な水素結合を形成するのは、エネルギー的に非常に困難が伴なう。これらの難点を一気に解決するアイデアが、ボロン酸を糖結合性官能基として利用する一連のボロン酸系レセプターの分子設計であった。この手法は、“non-biomimetic”なアプローチではあったが、大きな成功を納め、イギリス化学会より成書が発刊されるような一大研究分野に成長した¹⁾。それはそれで良かったが、プロジェクトに参加した研究者には、「自然界のように、水中で水素結合を利用する“biomimetic”なアプローチは実現できないであろうか」、というフラストレーションが貯っていた。

「1次元分子認識システム」の立場から自然界の物質を眺めると、生体はこの原理を巧みに利用して DNA やタンパクの高次構造を制御している。そこで働いている相互作用は主として疎水結合と水素結合である。言い換えると、適度な疎水性を持つミクロ環境下で多点の水素結合を作動させれば、“biomimetic”なアプローチも可能ではないか、と考えた。その中でも、我々は特に天然に存在する β -1,3-グルカンの 3 重螺旋に注目した。この螺旋構造は、加熱や極性有機溶媒に溶解することによって崩壊し、3 本のランダムなコンフォメーションを有する糖鎖に変化する。しかし、ランダムな

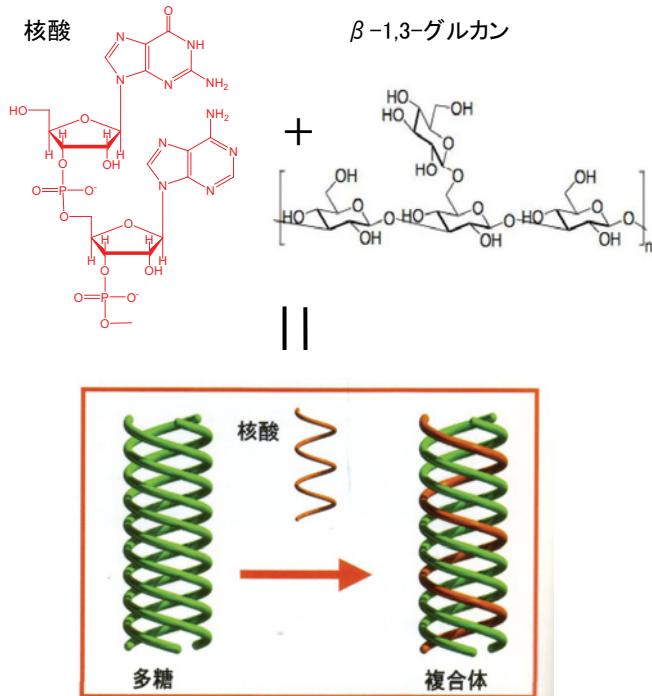


図 1.1 β -1,3-グルカンの 3 重螺旋を解き、再び巻き戻す過程で、核酸が系内に存在すると、核酸と多糖が新たな複合体を形成する。複合体中では、糖鎖 2 本と核酸 1 本が 3 重螺旋を形成。

¹⁾ T. D. James, M. D. Phillips, S. Shinkai, “Boronic Acids in Molecular Recognition”, RSC Publishing, Cambridge, 2006

3重螺糖鎖を室温で水溶液中に戻すと旋が回復する。この転写プロセスはDNAの2重螺旋形成に極似していることから、核酸が系内に存在する状況で糖の螺旋構造の再生を行うと、認識ミスが起こり、核酸と多糖があらたな複合体を形成すると予想した。この予想は正しく、カードラン、シゾフィラン、レンチナン等のすべての β -1,3-グルカンで、核酸と多糖の複合体の形成を世界で初めて発見した(図1.1)。DNAやRNAと相互作用する化合物は遺伝子工学上重要であり、ポストゲノムやプロテオミクスの技術開発の中で、極めて広範な応用範囲がある。さらに、 β -1,3-グルカンは、体内での安全性が既に実証済みの化合物であり、実用化への障害が少ないと予想される。この様に、天然に存在し且つ安全な材料で、核酸と相互作用する材料が発見されたことの意義は大きい。

第一ステージでは、 β -1,3-グルカンを用いて核酸との相互作用メカニズムを検証した。電子スペクトルや円偏光二色性スペクトルなどによるスペクトル的方法、電子顕微鏡や原子間力顕微鏡を用いる可視化、コンピューターを用いる理論的計算など、多方面からこの複合体の正体を研究し、最終的に β -1,3-グルカンが2本、核酸が1本の3本鎖から成る螺旋状構造を取っていると結論した。

第二ステージは、当SORSTグループが有機合成に強い研究員を多数抱えていたことと関係する。すなわち、 β -1,3-グルカンを有機合成により適宜修飾することによって、数多くの機能性 β -1,3-グルカンを世に送り出すことに成功した。例えば、(1)水溶性が乏しいことから、従来ほとんど利用されていなかったカードランは、分子量を下げることで水溶性となり、水溶性のシゾフィランと同様に利用できる、(2)シゾフィランの側鎖グルコースの酸化的アミノ化で、種々の官能基(疎水性、イオン性、細胞親和性など)を容易に導入することができる、(3)"click chemistry"を利用し、カードランの6位のOH基に定量的に官能基を導入できる、(4)末端にチオール基を導入することにより、金表面に配列させることができる、などが挙げられる。

第三ステージでは、これらの修飾 β -1,3-グルカンを遺伝子キャリアーとして応用した成果である。官能基によって高いターゲット性を持たせることができるとなり、アンチセンスDNAやCpG DNAなどの細胞導入に成功した。その結果、ガン治療、アレルギー症、免疫賦活などの目的に実用できるシステムがいくつか発見されるに至っている(図1.2)。さらに、プラスミドDNAの細胞内および核内への導入技術の開拓やメッセンジャーRNAの分離技術への展開も精力的に研究を行った。

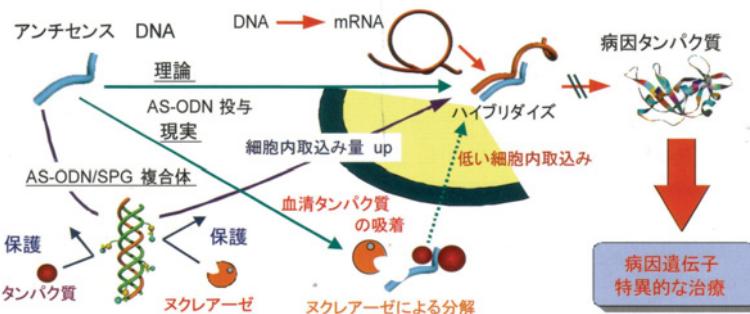


図1.2 従来のAS-ODNの課題点とAS-ODN/SPG複合体によるアンチセンス治療法

第四ステージは、当初から予測していたバイオ分野への応用のみならず、ナノテク分野へも応用できるという知見を得たことである。すなわち、 β -1,3-グルカンは、3重螺旋を形成する過程で核酸を定量的に取り込み、新規な螺旋状複合体を形成する。この β -1,3-グルカンが剛直かつ規則的な螺旋構造を形成する現象をヒントにして、直鎖状高分子あるいは有機分子をその螺旋構造中に取り込んだ新規コンジュゲートの創製を試みることにした。その結果、ナノテクノロジーの中核を担う機能性材料として注目されている単層カーボンナノチューブ(SWNT)とのコンジュゲート形成に成功した(図1.3)。

この発見を契機として、多数のポリマー(ポリスチレン、ポリアニリン、ポリシランなど)や分子会合体

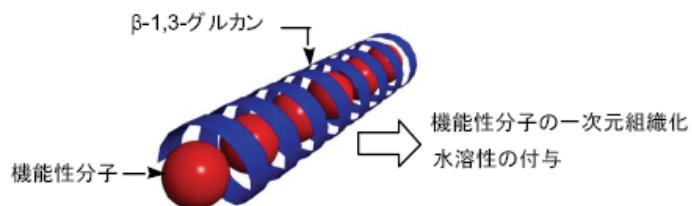


図1.3 β -1,3-グルカンからの螺旋空孔を利用した機能性分子の一次元配列

(ポルフィリン、シアニン色素など)が一次元に配列されることを確認した。また、螺旋空孔内で予めモノマーや金属ナノ粒子を1次元配列させた後、重合、融着などを進めることによりナノファイバーやナノワイヤー化も可能になった。すなわち、 β -1,3-グルカンが形成する一次元空孔が、“ナノフラスコ”として機作できることを示した。なお、5~50nmの直径を持つ金ナノ粒子が一次元配列されることから、この大きさが、 β -1,3-グルカンが一次元ホストとして対応できる許容範囲であると考えられる。

結論として、安価なローク構造材料としてのみ認知されていた多糖群の中に、 β -1,3-グルカンのような高度のバイオテクおよびナノテクに利用できる機能材料が存在することを明らかにしたことになる。言い換えると、 β -1,3-グルカンに桁違いの高附加值値を付けることに成功したと言える²⁾。SORSTの目的を考慮して、「応用に繋がる研究」に特化したために、発表した論文は専門性の高いものが多い。そのため“Web”等で検索する限り必ずしも発表論文の“citation”は高くない。しかしながら、終盤になってベンチャー企業：“Napa Genomics Corp.”を発足させることができたので、SORSTの目的はある程度達成したものと考えている。

研究終了にあたり、各方面から賜った多大なご支援に対して厚く御礼申し上げます。中でも、要員派遣や多糖提供など終始変わらぬご尽力を頂いた共同研究先の三井製糖株式会社(旧台糖株式会社)の各位に深甚の謝意を表すとともに、研究半ばで逝去された故田畠けん吾様のご冥福を心よりお祈り申し上げます。

²⁾ イギリス化学会誌 *Chem. Commun.* の “Future Articles” に発表 : K. Sakurai, K. Uezu, M. Numata, T. Hasegawa, C. Lie, K. Kaneko and S. Shinkai; “ β -1,3-Glucan polysaccharides as novel one-dimensional hosts for DNA/RNA conjugated polymers and nano particles”, *Chem. Commun.*, 35. 4383-4398(2005)

2 多糖・核酸複合体の創製と遺伝子デリバリーへの応用

[北九州市立大学・国際環境工学部 櫻井 和朗]

2.1 多糖・核酸複合体の発見と基本性状

2.1.1 β -1,3-グルカンの3重螺旋の解離と再生³⁾

多糖は核酸やタンパク質と並んで、生命現象をささえる重要な生体高分子の一つである。このなかで、カードランやシゾフィラン（図2.1）などが属する β -1,3-グルカンは、グルコースが β -1,3-結合を介して主鎖を構成していて、セルロースについて自然界に豊富に存在する中性の多糖である。 β -1,3-グルカンは自然界では、3重螺旋を形成している。この3重螺旋はジメチルスルホキシド(DMSO)やpHが13以上のアルカリ水溶液に溶解すると1本鎖に解離する。これをDMSO等の極性有機溶媒に溶解すると螺旋が解けてランダムコイル状の单一鎖となる。この状態から溶媒を水に戻すと、疎水性相互作用と水素結合によって分子間の結合が生じ、部分的ではあるが3重螺旋の構造が再生される。

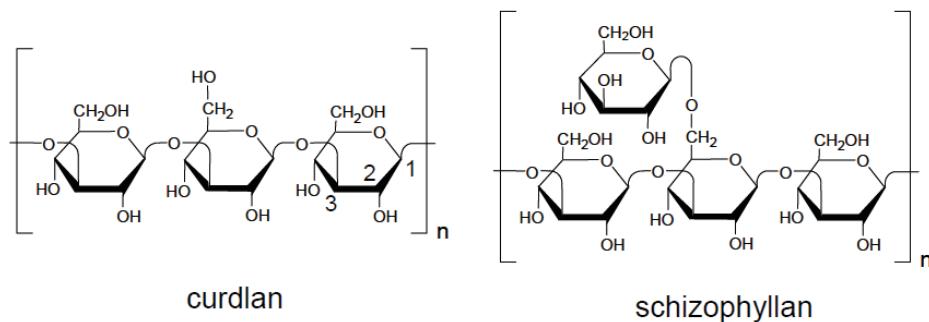


図2.1 Chemical structures of curdlan and schizophyllum⁴⁾

2.1.2 再生過程における核酸との複合化の発見^{5,6)}

我々はシゾフィラン（以後SPGと略記）の螺旋の再生過程に核酸が存在すると、新規の複合体ができる事を発見した。複合体形成に伴う円偏光二色性スペクトルと紫外光吸収スペクトルの変化を図2.2（左）に示す。ここで、poly(C)はポリシチジル酸の略称で1本鎖のホモRNAである。poly(C)と単一鎖のSPGを混合すると、複合体が形成され、円偏光二色性スペクトルでは280nmのバンドが大きくなるとともに、240nmに新しい

³⁾ Sato, S., et al., "Collapse of Randomly Coiled Schizophyllum in Mixture of Water and Dimethylsulfoxide". *Polym. J.*, 1983, **15**, p. 87-92

⁴⁾ *Biopolymers, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes*, ed. E.J. Vandamme. Vol. 6: Wiley-VCH.

⁵⁾ Sakurai, K. and S. Shinkai, "Molecular Recognition of Adenine, Cytosine, and Uracil in a Single-Stranded RNA by a Natural Polysaccharide: Schizophyllum". *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**(18), p. 4520-4521.

⁶⁾ Sakurai, K., M. Mizu, and S. Shinkai, "Polysaccharide-polynucleotide complexes. 2. Complementary polynucleotide mimic behavior of the natural polysaccharide schizophyllum in the macromolecular complex with single-stranded RNA and DNA", *Biomacromolecules*, 2001, **2**(3), p. 641-50.

ピークが生まれている。また、紫外光吸収スペクトルでは顕著な淡色効果が見られる。図2.2に示した変化は、poly(C)内のシトシン基の立体的な位置関係が変化したこと、すなわち、SPGと複合体を形成する事によってpoly(C)のコンフォメーションが変化したことを示す。その他に複合体の形成は、ゲル電気泳動や、蛍光偏光解消度、X線小角散乱法からも確かめられた。

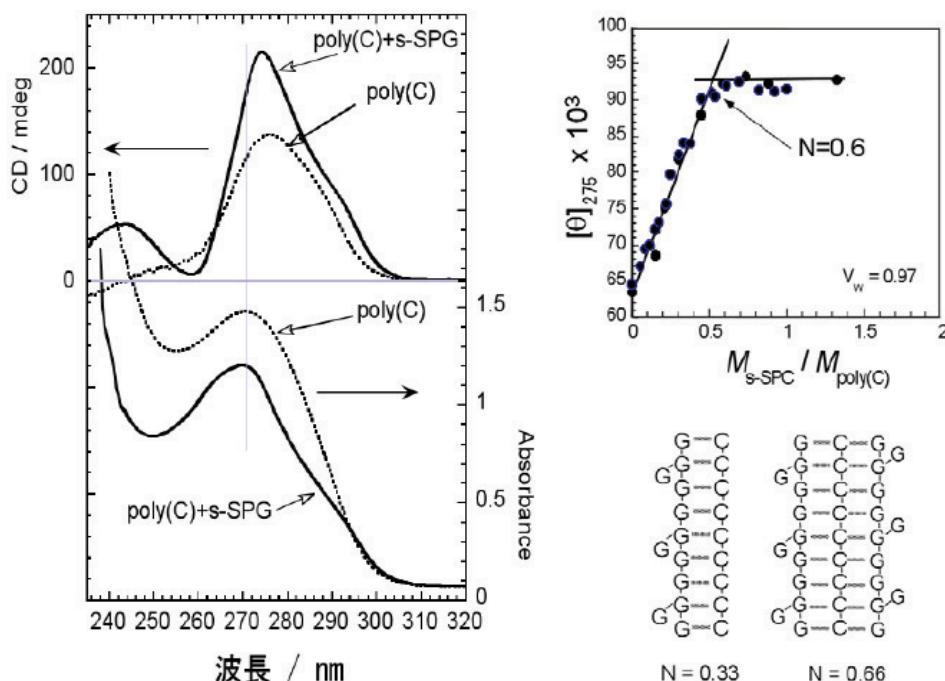


図2.2 Comparison of the UV and CD spectra between poly(C) and poly(C)/SPG complex measured at 10 °C (left) and the Job plot (right); where M_{s-SPG} and $M_{poly(C)}$ are the molar concentrations of poly(C) and SPG, respectively ⁶⁾.

2.1.3 複合体の基本性状解析の目的

核酸と複合体を形成する高分子はほとんど例外なくポリカチオンであり、ポリアニオノンとのイオン対形成が駆動力である。従って、中性の多糖と核酸が複合体を形成するとの事実は極めて新規な現象である。我々は、この新しい複合化現象は、科学的に重要な発見であるとともに、多糖を用いた材料開発の分野で新しい方法論を提供できると考え、以下の観点から研究を開始した。

- (1) 複合体の基礎的な性質を明らかにする。
- (2) 複合体の分子構造を明らかにする。
- (3) 機能性核酸のデリバリーへの応用。

2.2 多糖・核酸複合体の基本性状

2.2.1 β -1,3-グルカンの普遍的な性質^{7,8)}

SPGの構造のどの部分が複合化において重要であるか検討するために、入手可能な多糖すべてに関して、核酸との複合化能を調べた。その結果、多糖の主鎖構造が β -1,3-グルカンであり、3重螺旋の再生過程に核酸が共存することが重要であることを見いたした。水に溶けないカードランにおいても分子量を低くすることでSPGと同様な複合体を形成することを明らかにした。

すなわち、この複合化現象は β -1,3-グルカンの普遍的な性質であることが明確になった。農芸化学や多糖化学の分野において、 β -1,3-グルカンの研究は長い歴史があるが、我々の発見は、 β -1,3-グルカン研究に大きな進歩をもたらしたものと信じる。

2.2.2 核酸選択性^{6,9)}

表2.1にSPGと複合体を形成するホモ核酸の種類を示す。現在のところ、ヘテロ配列で複合体を形成する核酸は発見されておらず、すべてホモ配列である。複合体を形成する核酸に共通するのは、非占有の水素結合サイトが存在することである。逆に、Gの4量体などのように分子内や分子間会合に水素結合サイトが使用されていると、 β -1,3-グルカンとの複合体は形成しない。

表2.1 SPG との複合体の核酸選択性

		complex formation	$T_m / ^\circ C$	fonformation
RNA	poly(C)	Yes	54	single chain
	poly(A)	Yes	32	single chain
	poly(U)	No		intramolecular H-bond (hairpin like)
	poly(G)	No		4G wire (intramolecular H-bond)
	poly(I)	No		intramolecular H-bond
DNA	poly(dC)	No		intramolecular H-bond
	poly(dA)	Yes	(40)* 80	single chain
	poly(dT)	Yes	10	single chain
	poly(dG)	No		4G wire (intramolecular H-bond)

* conformational transition temperature, see the text in detail.

2.2.3 解離挙動のDNA 2重鎖との類似性⁶⁾

図2.3に円偏光二色性スペクトルの極大値 $[\theta]_{max}$ を温度に対してプロットした。Poly(C)やpoly(A)のみの溶液では温度の上昇に従いpoly(C)はSPGと複合体を形成するために、低温において大きな $[\theta]_{max}$ を示す。温度の上昇にともない、poly(A)の系では32°Cで、poly(C)では55°Cで急激に $[\theta]_{max}$ が減少した後は、それぞれのRNAのみの溶液に対応する直線に合流する。この挙動は、DNAの2重螺旋の融解現象ときわめて類似し、複合体の解離が協同的に行われることを示している。さらに興味深いのは、poly(C)と

⁷⁾ Koumoto, K., et al., "Chemical Modification of Curdlan to Induce an Interaction with Poly(C)", *Chem. Lett.*, 2001, p. 908-909.

⁸⁾ Kimura, T., et al., "Polysaccharide-Polynucleotide Interaction (XI): Novel separation system of RNAs by using schizophyllum-appended column", *Chem. Lett.*, 2003, p.1240-1241.

⁹⁾ Sakurai, K., et al., "Polysaccharide-polynucleotide complexes VIII. Cation-induced complex formation between polyuridylic acid and schizophyllum", *Biopolymers*, 2002. **65**(1), p. 1-9.

poly(A)の複合体では、解離温度が20°Cも異なる事実である。DNAの2重螺旋の融解温度は、CG含量に比例して高くなり、ATのみでは65°C、CGのみは100°C程度である。この融解温度の差は、Poly(C)やpoly(A)のみの溶液では温度の上昇に従いpoly(C)はSPGと複合体を形成するために、低温において大きな $[\theta]_{\text{max}}$ を示す。温度の上昇とともにない、poly(A)の系では32°Cで、poly(C)では55°Cで急激に $[\theta]_{\text{max}}$ が減少した後は、それぞれのRNAのみの溶液に対応する直線に合流する。この挙動は、DNAの2重螺旋の融解現象ときわめて類似し、複合体の解離が協同的に行われるこことを示している。さらに興味深いのは、poly(C)とpoly(A)の複合体では、解離温度が20°Cも異なる事実である。DNAの2重螺旋の融解温度は、CG含量に比例して高くなり、ATのみでは65°C、CGのみは100°C程度である。この融解温度の差は、塩基対の水素結合数が融解エンタルピーの差として反映されているためである(ATは2対、CGは3対)。SPGの化学構造にAとGの区別する塩基特異的な水素結合部位があるとは考えにくいがこの熱解離挙動の差は水素結合が複合体形成に大きく関与していることを示唆している。

2.3 多糖・核酸複合体の分子構造

2.3.1 化学量論比⁶⁾

図2.2の右側に、poly(C)の濃度を一定にしてs-SPGの濃度を変化させた時の波長275nmの分子橋円率($[\theta]_{275}$)の変化をSPGとpoly(C)のモル濃度の比として示した(Job plot)。モル濃度比の低い領域では、 $[\theta]_{275}$ は直線的に上昇していくが、モル濃度比=0.6のところで明瞭な屈曲点を示した後に $[\theta]_{275}$ の値は一定となる。この屈曲点から複合体の化学量論比がN=0.6と求まる。この値は、複合体を形成する他の核酸でもほぼ同じであり、ゲル電気泳動や蛍光偏光消度などの他の測定方法でも同じ値が得られる。このN=0.6を説明するには、図の下に示した2重螺旋ではなく、SPGのβ-1,3-グルカン主鎖を構成するグルコース2分子と核酸1分子が相互作用しているモデル、すなわち多糖2本と核酸1本から構成される3重螺旋を考える必要がある。

2.3.2 β-1, 3-グルカンの水素結合の再検討¹⁰⁾

多糖の教科書には、図2.4のType Aの水素結合がβ-1,3-グルカンの3重螺旋を安定化

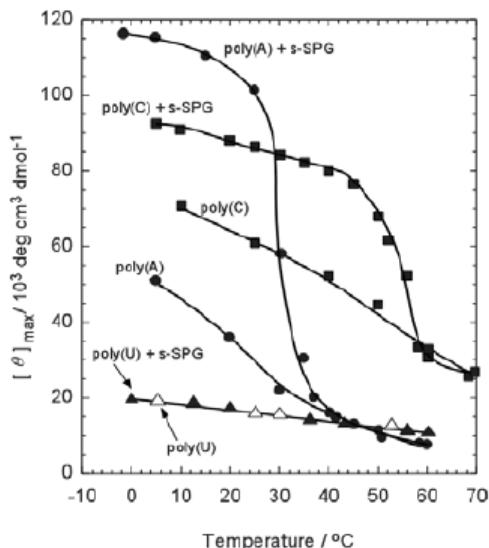


図2.3 Temperature dependence of $[\theta]_{\text{max}}$ for poly(A) and poly(C), and their mixtures with s-SPG.

¹⁰⁾ Miyoshi, K., et al., "Propasol of a New Hydrogen-Bonding From to Maintain Curdlan Triple Helix". *Chemistry & Biodiversity*, 2004, 1, p. 916-924.

していると述べてある。しかし、この水素結合をもとに複合体の構造を推定した場合、どの様に核酸を配置しても安定な結合を作りきかなかった。そこで、 β -1,3-グルカンの水素結合の再検討を行ったところ、Type Cの構造を新たに見出した。ここでは、3本の鎖にまたがって分子間水素結合が連結しており、主鎖とは逆の左巻き螺旋を形成していた。これら3つのタイプの生成熱（HOF）をMOPACにより計算したところ、最も安定な水素結合様式はType Cであった。

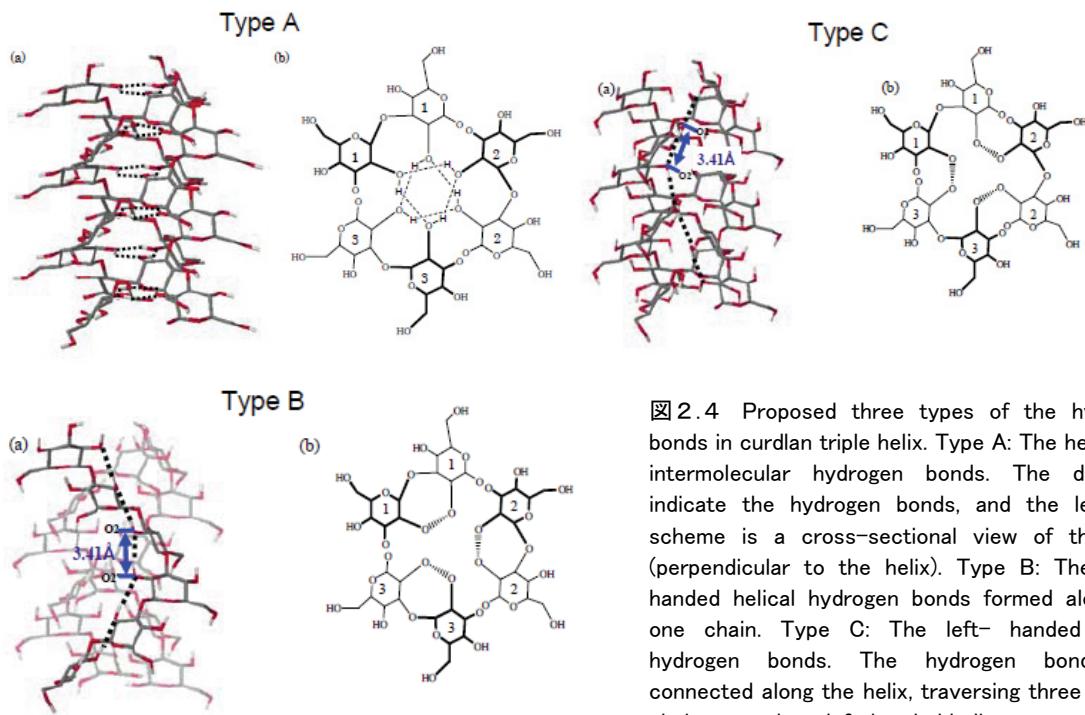


図2.4 Proposed three types of the hydrogen bonds in curdlan triple helix. Type A: The hexagonal intermolecular hydrogen bonds. The dot-lines indicate the hydrogen bonds, and the left side scheme is a cross-sectional view of the helix (perpendicular to the helix). Type B: The right-handed helical hydrogen bonds formed along the one chain. Type C: The left-handed helical hydrogen bonds. The hydrogen bonds are connected along the helix, traversing three curdlan chains to make a left-handed helix.

2.3.3 複合体の分子構造¹¹⁾

上述したType Cの構造に基づき、poly(C)とカードランの複合体の構造が計算化学的に推定した。その結果を図2.5に示す。丁度、3番目の多糖の鎖が核酸で置き換わっている。これを模式的に示したのが図2.5の右図である。異なる鎖の2位の水酸基を繋いでいる水素結合の連結の一部が核酸に置き換わっていることが明確に示される。

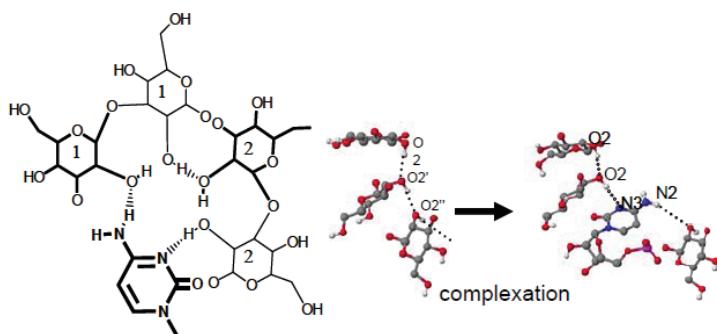


図2.5 Cross-sectional views of poly(C)/curdlan complex and a side views.

¹¹⁾ Miyoshi, K., et al., "Polysaccharide-polynucleotide complexes. Part 32. Structural analysis of the curdlan/poly(cytidylic acid) complex with semiempirical molecular orbital calculations", *Biomacromolecules*, 2005, 6(3), p.1540-6.

2.3.4 電子顕微鏡観察等¹²⁾

図2.6に、再生した SPG と複合体の AFM 像、および棒状に見える像の長さの分布を示す。再生した SPG は、3 重螺旋構造を持つ棒状である。その長さの分布は、1 本にほどく前の天然の SPG とほぼ同じである。しかし、複合体では複数の分布の集まりであり、図中に模式図で示した様に poly(C)を解して、2 連結や 3 連結の会合体があると考えられる。データは示さないが、白金のシャドウイング処理をした試料を SEM で観察したところ、複合体にも、もとの 3 重螺旋と同等の螺旋模様が観察されたことより、図2.5で示した、複合体のモデルが正しいと考えられる。また、複合体の水溶液からの X 線小角散乱の散乱プロファイルからも棒状高分子であることが示され、得られた断面の慣性半径も 3 重螺旋が形成されていることを示唆していた。

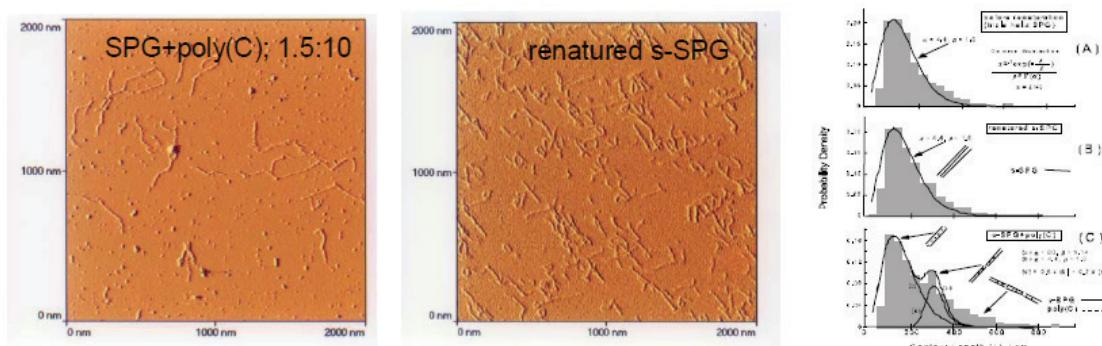


図2.6 Comparison of AFM images between renatured SPG and s-SPG/poly(C) complex (upper) and the rod length distribution for the original triple helix (A), renatured s-SPG (B), and s-SPG + poly(C) complex (C). The inserted illustration in each panel schematically shows a possible molecular aggregate.

複合体の構造を調べるために一軸配向サンプルを作成して、WAXS から纖維図形を得ることを試みた。結晶化度が悪いために良質の写真を得ることができなかつたが、複合体の螺旋周期は、3 重螺旋の SPG とほぼ同じであること、核酸塩基は DNA と同様に纖維方向に垂直に配向していることが明らかになった。また、塩基間の距離はほぼ 3.5Å であった。この結果は計算化学から得られた構造と矛盾しない。

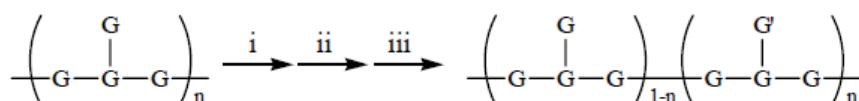
¹²⁾ Bae, A.H., et al., "Rod-like architecture and helicity of the poly(C)/schizophyllan complex observed by AFM and SEM", *Carbohydr. Res.*, 2004, **339**(2), p.251-8.

2.4 多糖の精密化学修飾の検討

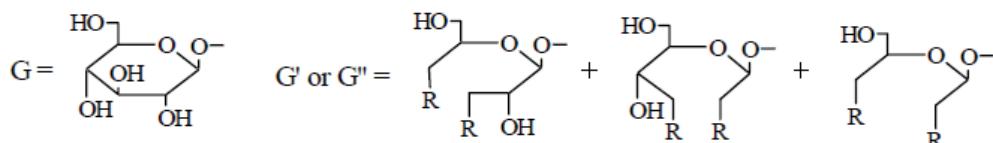
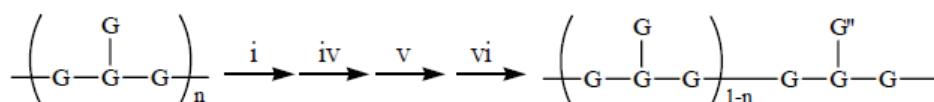
2.4.1 側鎖への化学修飾^{13, 14, 15)}

シゾフィラン(SPG)はグルコースの側鎖をもち、過ヨウ素酸で酸化すれば側鎖のみが選択的に開裂してアルデヒド末端が形成される。この方法により、核酸との複合化に重要な主鎖の β -1,3-構造が完全に保持されたまま側鎖に官能基を導入することができる。ペプチド導入に関してはマレイミドにシステインを介した方法(図2.7)を用いた。これにより幅広い官能基を側鎖に導入することに成功し(表2.2)、アンチセンスDNAなどの機能性核酸の細胞導入への道を開いた。

I) Amine-appended SPG



II) Peptide-appended SPG



Reagents and conditions: (i) NaIO4, H2O, 4 °C, 2 days, (ii) amine or amino acid, DMSO, rt, 2 days, (iii) NaBH4, DMSO, rt, 1 day, (iv) 28%NH3 aq., NaBH3CN, DMSO, rt, 4 days, N-succinimidyl-3-maleimidopropionate, DMSO, rt, 1 day, (vi) peptide, DMSO, rt, 2 days.

図 2.7 Reaction scheme to introduce the functional groups into the side chain of s-SPG.

¹³⁾ Koumoto, K., et al., "Chemical modification of schizophyllan by introduction of a cationic charge into the side chain which enhances the thermal stability of schizophyllan-poly(C) complexes", *Chem Commun (Camb)*, 2001(19), p.1962-3.

¹⁴⁾ Mizu, M., et al., "Protection of polynucleotides against nuclease-mediated hydrolysis by complexation with schizophyllan". *Biomaterials*, 2004, **25**(15), p.3109-16.

¹⁵⁾ Mizu, M., et al., "Antisense oligonucleotides bound in the polysaccharide complex and the enhanced antisense effect due to the low hydrolysis", *Biomaterials*, 2004, **25**(15), p.3117-23.

表2.2 Sample codes and the introduced chemical groups

Sample code	R	Modification level ^a	N/P ratio ^b
N(17)-SPG		17.1 ±0.7 mol%	0.51
SP(4.6)-SPG		4.6 ±0.3 mol%	0.27
SP(12.7)-SPG		12.7 ±0.9 mol%	0.77
SP(24.7)-SPG		24.7 ±1.3 mol%	1.50
APPD(4.1)-SPG		4.1 ±0.3 mol%	0.26
R(3.6)-SPG		3.6 ±0.1 mol%	0.21
R(9.3)-SPG		9.3 ±0.2 mol%	0.56
R(13.5)-SPG		13.5 ±0.1 mol%	0.81
S(6.4)-SPG		6.4 ±0.3 mol%	- 0.20
S(13.2)-SPG		13.2 ±0.4 mol%	- 0.39
R8(0.5)-SPG		0.5 ±0.1 mol%	~ 0
RGD(1.3)-SPG		1.3 ±0.3 mol%	~ 0

^a Determined by N elemental analysis. ^b cation(N)/anion (P) ratio

2.5 アンチセンス DDSへの応用

2.5.1 インビトロ試験 ^{15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22)}

アンチセンス DNA とは、蛋白を合成する mRNA の塩基配列に対して相補的な塩基配列をもつ DNA のことであり、mRNA に結合することで、蛋白質の生産を特異的に抑えることができる。培養細胞を用いたインビトロでは、SPG を用いたアンチセンスのデリバリーの有用性を幾つかの系で示してきた。ここではその代表例として、超分子

¹⁶⁾ Mizu, M., et al., "Protection of polynucleotides against nuclease-mediated hydrolysis by complexation with schizophyllan", *Biomaterials*, 2004. **25**(15): p. 3109-16.

¹⁷⁾ Mizu, M., et al., "Antisense oligonucleotides bound in the polysaccharide complex and the enhanced antisense effect due to the low hydrolysis". *Biomaterials*, 2004. **25**(15): p. 3117-23.

¹⁸⁾ Mizu, M., et al., "Enhancement of the Antisense Effect of Polysaccharide? Polynucleotide Complexes by Preventing the Antisense Oligonucleotide from Binding to Proteins in the Culture Medium", *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2004. **77**: p. 1101-1110.

¹⁹⁾ Karinaga, R., et al., "PEG-appended beta-(1→3)-d-glucan schizophyllan to deliver antisense-oligonucleotides with avoiding lysosomal degradation", *Biomaterials*, 2005. **26**(23): p. 4866-73.

²⁰⁾ Karinaga, R., et al., "Galactose-PEG dual conjugation of beta-(1→3)-D-glucan schizophyllan for antisense oligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake", *Biomaterials*, 2006, **27**(8): p. 1626-35.

²¹⁾ Karinaga, R., et al., "First observation of complexation between mRNA and the natural polysaccharide schizophyllan by the fluorescence polarization", *Chemistry & Biodiversity*, 2004, **1**: p. 603.

²²⁾ Hasegawa, T., et al., "Schizophyllans carrying oligosaccharide appendages as potential candidates for cell-targeted antisense carrier", *Org. Biomol. Chem.*, 2004, **2**(21): p. 3091-8

の手法を用いた肝細胞へ、細胞増殖に関するタンパク質をターゲットとしたアンチセンス鎖 AS-c-myb の選択的デリバリーの例を紹介する。ここでは、 β -シクロデキストリンを側鎖に修飾した SPG を用いた（以後 β CyD-SPG）。

アンチセンス DDS の例として、SPG と結合する DNA は、ポリアデニル酸:poly(dA)などのホモ核酸に限られている。そこで、AS-c-myb には 3' 端に dA20 鎖が付加している。これにより、核酸を端から加水分解するエキソヌクレアーゼに対する耐性は、AS-c-myb/SPG 複合体では AS-c-myb 単独と比べて大幅に向上している。図2.8の A は AS-c-myb と β CyD-SPG の複合体の模式図を示す。複合体の分子モデルによると、主鎖グルコースの 2 位の水酸基が核酸と水素結合していて、側鎖は外に突き出した構造を取る事からも、図2.8の A の模式図が妥当であると考えられる。

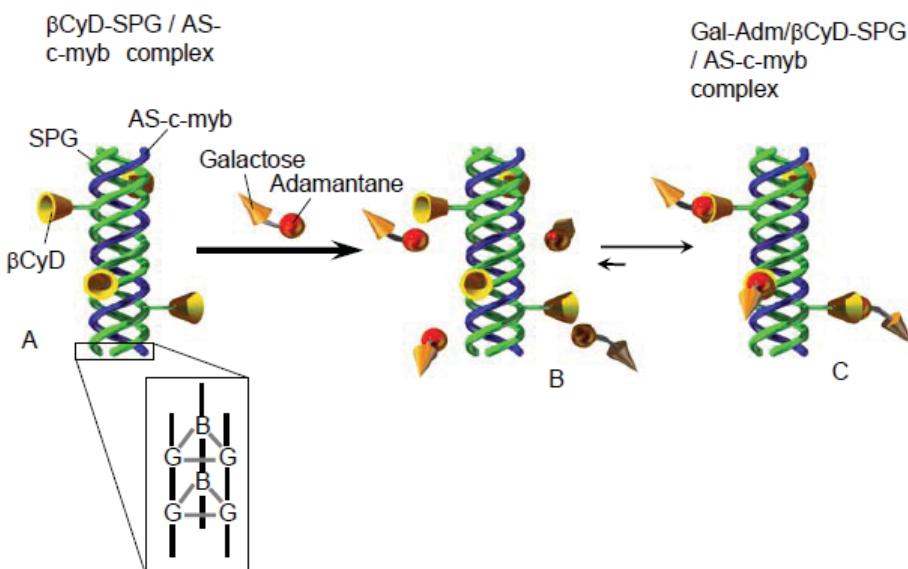


図2.8 Schematic presentation of complexation between β -CyD attached SPG and galactose-adamantan conjugate.

アダマンタンは β CyD と $106M^{-1}$ 以上の高い結合定数で包接化合物を作る事が知られている。その性質を利用して、図2.8のC の様に、複合体の表面にガラクトースを配置し、ガラクトースを選択的に取り込むことが知られている肝細胞へのAS ODNの選択的導入を行う事が最終的な目標である。ガラクトースを直接SPGに修飾することも可能であるが、 β CyDとアダマンタンの包接現象を利用する利点は、アダマンタンに修飾する糖の種類を変えることで、標的細胞が用意に変えられること、 β CyD自身に小胞体の 2 分子膜かく乱作用があり、エンドサイトーシス経路から細胞質への移行機能が期待できることである。

FITCを修飾した β CyD(10.3)-SPG と poly(dA)40 を複合化した後に、加えた Gal-Adm の量と Hep G2 細胞の内部への移行効率の関係を、FCM を用いて調べた。FITC に起因する蛍光強度に対して細胞の数をプロットした結果を図2.9 に示す。即ち、蛍光強度が

大きな細胞が多いほど、FITCの細胞内への移行能が大きくなる。複合体中の β CyDに対して加えたGal-Admのモル比を増加していくと、細胞内移行能が、モル比0.6–1.0までは増加するが、それ以上モル比を大きくしても変化は少ない。興味深いのは、SPGにCyDを修飾しただけで、細胞内への移行能が約1桁上がっている事である。

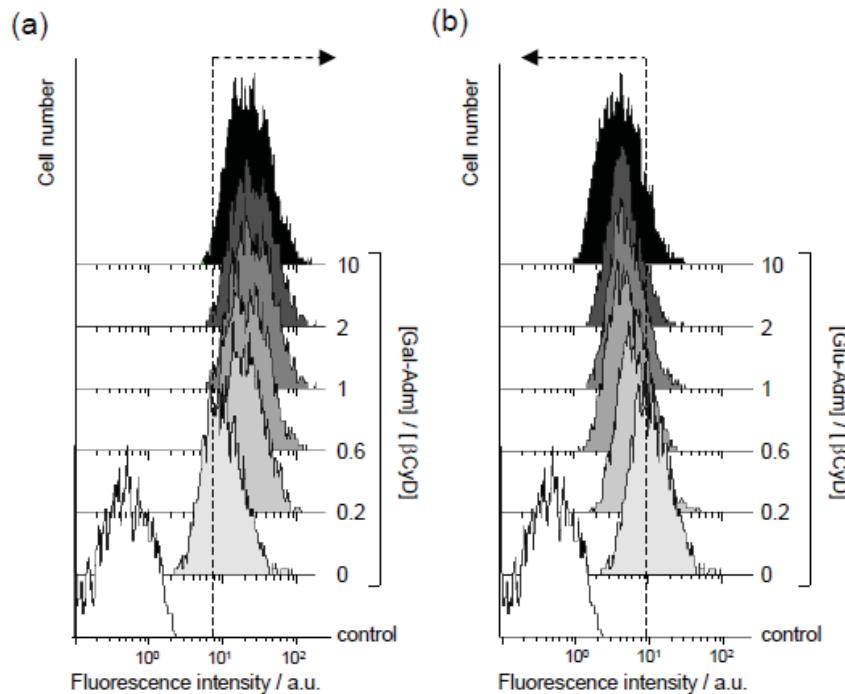


図2.9 Flow cytometric analysis of Hep G2 cells after FITC labeled complex was administrated.
The left panel(a) shows the cellular distribution when the Gal-Adm to β CyD molar ratio
was increased and the right panel (b) is the case of Glu-Adm for comparison

β CyDで修飾したSPGを用いてアンチセンスDNAであるAS-c-mybをHep G2に投与した時の細胞増殖率を図2.10に示す。図2.10(a)はHep G2に対してAS-c-mybを投与した結果であり、図2.10(c)は細胞をA375に変えた場合の結果である。図2.10(b)と(d)はSs-c-mybに対する、Hep G2とA375の結果である。スクランブル配列を用いた(b)と(d)に示された結果から、図2.10で観測される細胞増殖率の減少は主としてアンチセンス効果によるc-mybタンパクの発現抑制によると判断できる。図2.10(a)において、AS-c-mybのみ(図ではNaked)を投与した場合は増殖率が82%まで下がる。これは、AS-c-mybとしてホスホロチオエートを用いており、それ自体に細胞内移行能がある為である。これを未修飾のSPGと複合化した後に投与すると75%まで増殖率が低下する。水らの実験によると、SPGとの複合化は培地として使用しているBSAとホスホロチオエート型AS-c-mybとの結合を防ぐ。従って、培地中でアンチセンス活性を保持しているAS-c-mybの濃度は複合体の方が高く、この為に増殖率がNakedと比較してより低下する。狩長らは、SPGの側鎖に直接ガラクトースを8.7%修飾したGal(8.7)-SPGを用いてAS-c-mybをHep G2に選択的に取り込ませる事を示した。

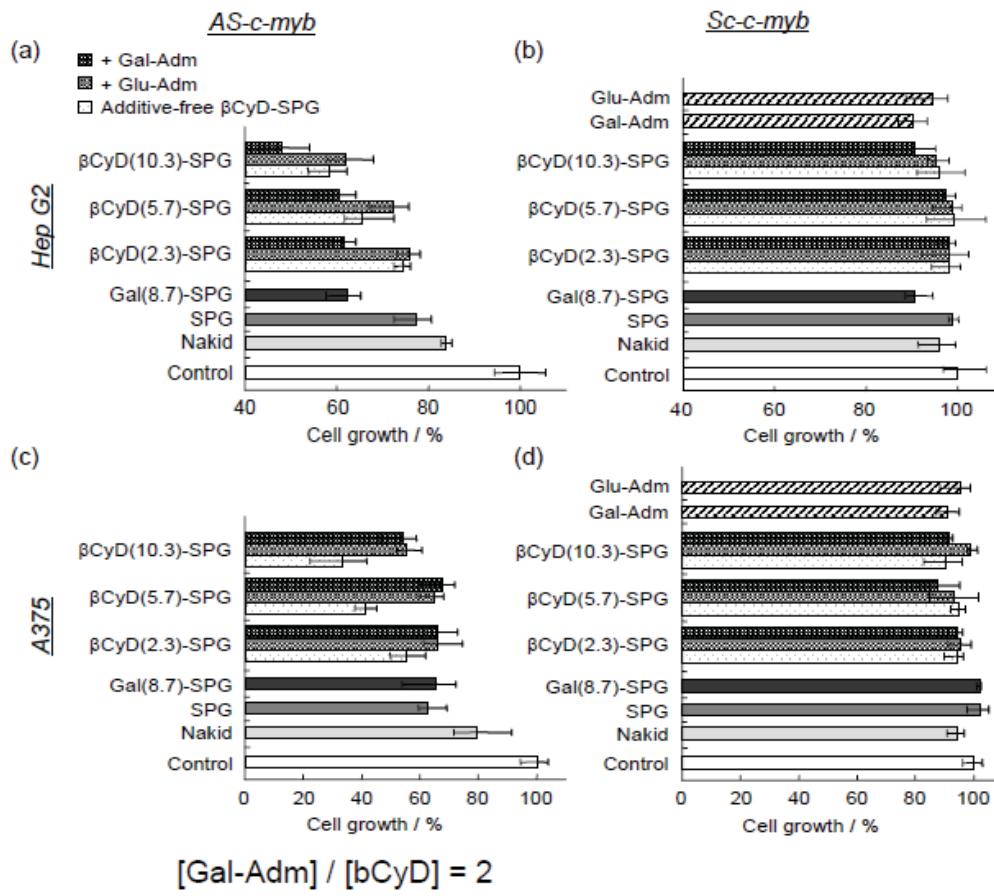


図2.10 Comparison of the proliferation obtained with the WST assays. AS-c-myb was added to Hep G2 (a) and to A375 (c). As a control, Sc-c-myb was added to Hep G2 (b) and to A375 (d). The Glu-Adm to β CyD molar ratio was fixed at 2.0.

細胞増殖抑制試験で得られた結果が、アンチセンス効果によってもたらされたものであることを証明するため、RT-PCR法によって標的であるc-mybのmRNAの減少を調べた。 β CyD-SPGとCyD-SPG+Gal-Admを用いた場合は、他の系と比較して、c-mybのmRNAの絶対量が減少していることが明らかとなった。

その他、細胞膜親和性のある各種の置換基を側鎖を有する β -1,3-グルカン誘導体およびそれらのアンチセンスDNAとの複合体を新規に合成し、かつインビトロでのアンチセンスDDSの効果を調べている。それらの詳細な結果については、資料編に記載した発表文献および出願特許を参照していただきたい。

2.5.2 インビオ試験への挑戦²³⁾

抗原提示細胞APCはDectin-1と呼ばれる認識部位を細胞表面に持っていて、SPGなどの β -1,3-グルカンを認識して細胞に取り込むと言われている。その性質を利用して、関

²³⁾ Koyama, Y., et al., "Complexation of oligodeoxynucleotide with the β -(1→3)-D-glucan schizophyllan to increase stability in blood and potentiate the antisense drug efficacy in vivo", *J. Control Release*, submitted.

節炎周辺に集積したマクロファージから産出されるTNFに対するSPG複合化アンチセンスDNAの効果について検討した。また、FITC修飾SPGを用いた共焦点レーザー顕微鏡観察よりSPGはマクロファージが持っている β -1,3-グルカン認識レセプターであるDectin-1を介して細胞に取り込まれることを確認した。

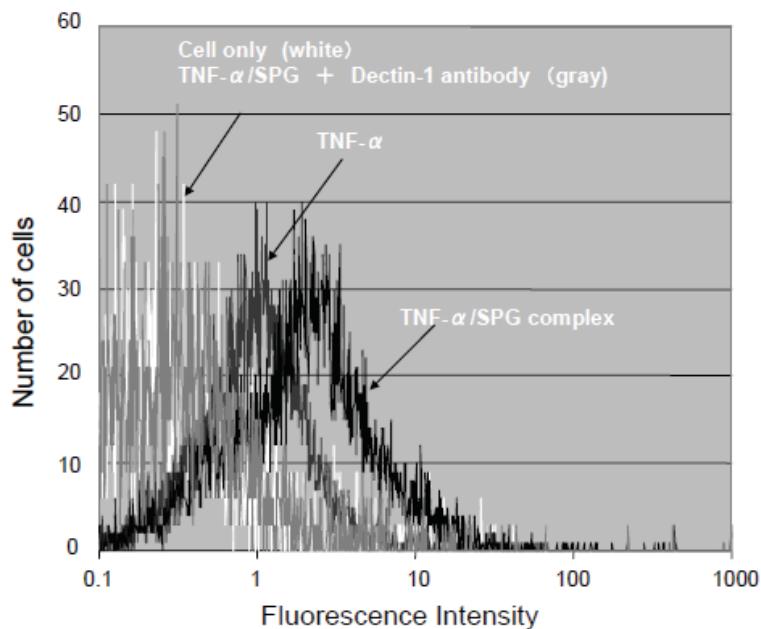


図2.11 FACS analysis. J774.A1 was allowed to attach to the wells at 37 °C for 24 h. After added 1.25 μ M of antisense DNA (or complexed AS DNA), the cells were further incubated for 3h. Rat Dectin-1 antibody (MAB1756, Funakoshi) was used to examine whether the SPG complex was ingested through Dectin-1.

関節炎でのインビボ試験については、血清中におけるOligo/SPG複合体の安定性試験により行った。その結果、ヒト血清中でDNAのみでは3時間後にバンドが完全に消失し、複合体では12時間後でも幅が広いバンドの残存が確認された。これより、アンチセンスDNAをSPGで複合化することにより血清中でアンチセンスDNAが安定に存在できることが判明した。BalbCマウス抗II型コラーゲン抗体を腹腔内投与して人工的に関節炎を発症させ、そこに裸のアンチセンス鎖と複合化したアンチセンス鎖を投与して、関節の厚さ（関節炎の程度）を評価した。複合体では強い抑制効果がみられた（図2.12と図2.13）。

Collagen-Induced Arthritis and Reduction of TNF

II型コラーゲン誘導マウス関節炎
(慢性関節リュウマチ実験モデル)

抗II型コラーゲン抗体接種後のマウスにLPSを投

関節炎周辺にあつまつたマクロファージから産出されるTNFを抑制



Arthritis induced by LPS injection, followed by anti-collagen-MAb(ip)

	reagent	dose
1	none (saline)	50ul
2	naked oligo(dA30)	2ug/50ul x 1
3	conjugate	2ug/50ul x 1

BALB/c, female, 5w, n=12

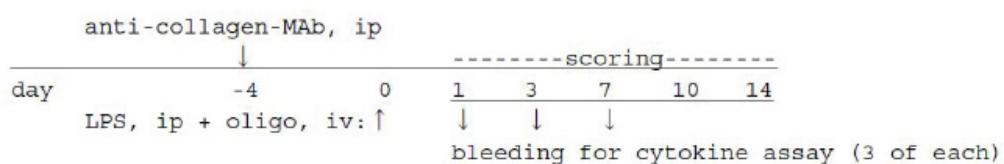


図2.12 Arthritis induced by anti-CII Ab and antisense TNF dose schedule.

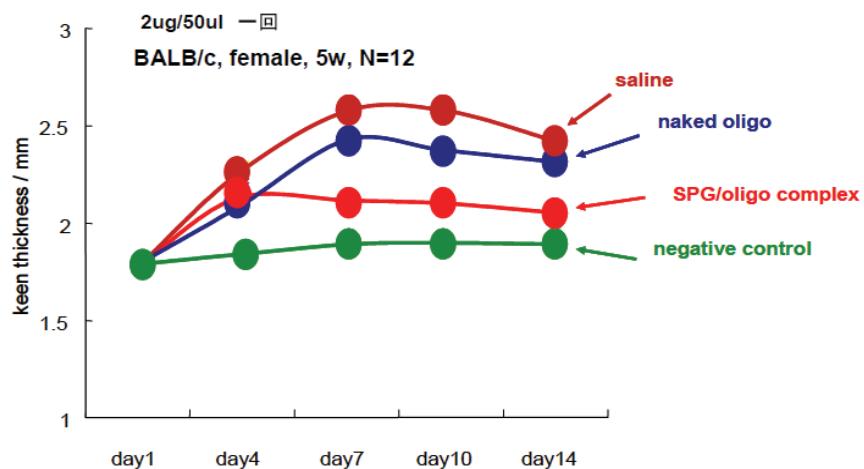


図2.13 Collagen-Induced Arthritis and Reduction of TNF

2.6 CpG DNA の DDS への応用

2.6.1 CpG DNA について^{24,25,26)}

近年、ウイルスに特異的な DNA の配列であるメチル化されていない CpG DNA を免疫系の細胞である抗原提示細胞に取り込ませて、細胞性免疫の活性する方法が注目を浴びている。しかし、CpG DNA そのものは生体で分解されやすく、デリバリーシステムの開発が不可欠である。そこで、SPG と核酸の複合体をこのデリバリーに応用することを試みた。図2.14 と図2.15 に SPG を用いた CpG DNA のデリバリーの基本的戦略を示す。すでに明らかにされているように、SPG は水素結合と疎水的相互作用によって、DNA と 2 : 1 の 3 重螺旋複合体を形成する。この複合体は培地中の DNase による DNA の加水分解を大幅に抑制するとともに、アルブミン等の血漿タンパクと DNA の非特異的吸着を抑制する。あらかじめ s-SPG に修飾された細胞表面結合部位（図2.14 では RGD ペプチド）によって、s-SPG/DNA 複合体はエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる。

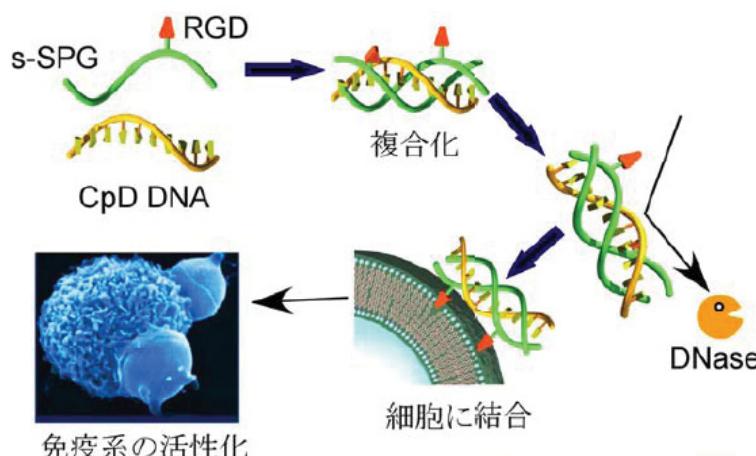


図2.14 Basic Concept of CpG DNA delivery to APC.

図2.15 では、コレステロールを修飾した SPG と CpG DNA の細胞への取り込み機構と免疫刺激の仕組みを示す。複合体は LDL 受容体を介して細胞に取り込まれ、エンドソームへ移行する。後期エンドソームのベシクル内の pH は 5 度程まで低下することが知られている。pH が酸性側になると核酸塩基のプロトン化によって複合体が解離し、TLR9 に認識されて免疫を刺激する。

²⁴⁾ Henmi, H., et al., "A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA", *Nature*, 2000. **408**(6813), p. 740-5.

²⁵⁾ Mizu, M., et al., "A polysaccharide carrier for immunostimulatory CpG DNAs to enhance cytokine secretion", *J. Am. Chem. Soc.*, 2004. **126**(27), p. 8372-3.

²⁶⁾ Shimada, N., et al., "Synthesis and in Vitro Characterization of Antigen-Conjugated Polysaccharide as a CpG DNA Carrier", *Bioconjugat Chem*, 2006. **17**(5), p. 1136-1140.

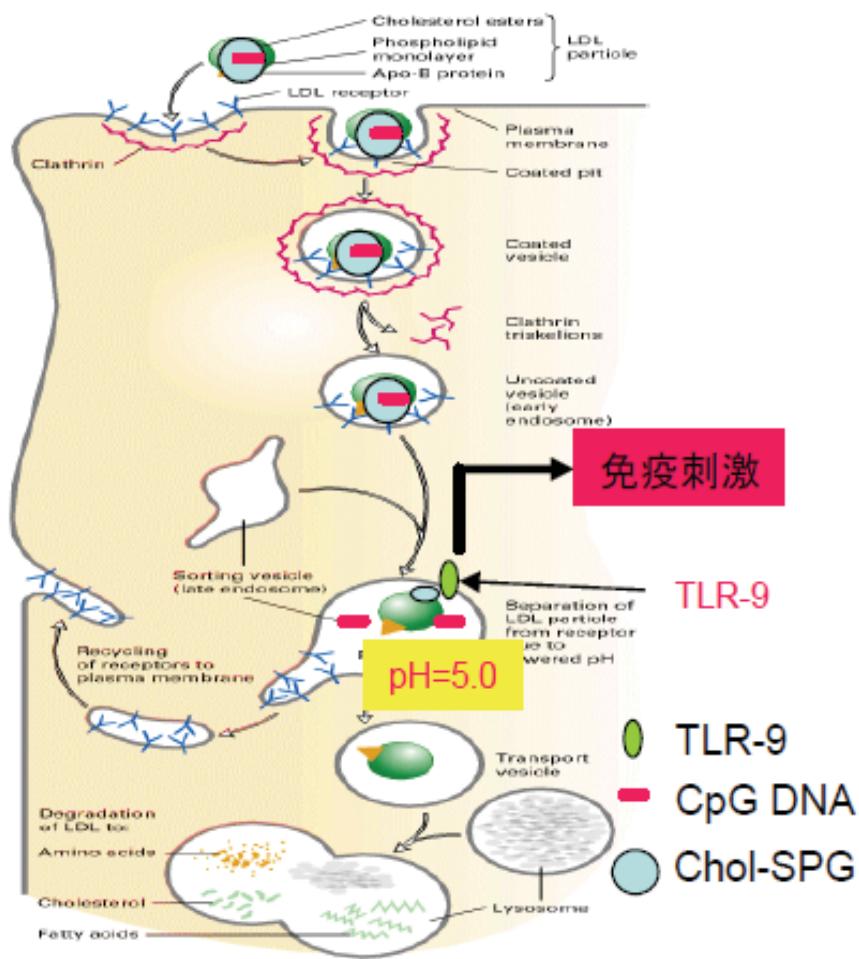


図2.15 Cellular ingestion of cholesterol-attached SPG/CpG DNA and immune stimulation at late endosome.

2.6.2 インビトロでの試験²⁵⁻²⁷⁾

マウス由来のマクロファージにおけるサイトカイン産生を比較した(図2.16)。細胞に CpG DNA を接触させた後 24 時間後のサイトカインの濃度を ELISA Kit (ENDOGEN) にて定量した。Naked の CpG DNA を投与したときと比較して、4~5 倍量のサイトカインが放出されている。ここではデータは示さないが、フルオロセインを修飾した SPG を細胞に接触させ、レーザー共焦点顕微鏡で観察したところ、R8 と RGD 修飾の SPG はマクロファージ内への取り込みが確認できた。現在、CpG DNA を用いた花粉症治療や癌の免疫療法の開発を目指して、大阪大学の微生物学研究所と共同で、マウスを用いたインビトロ試験を進めている。

²⁷⁾ Shimada, N., et al., "A Polysaccharide Carrier to Effectively Deliver Native Phosphodiester CpG DNA to APCs". *Bioconjug Chem*, 2007 (in press).

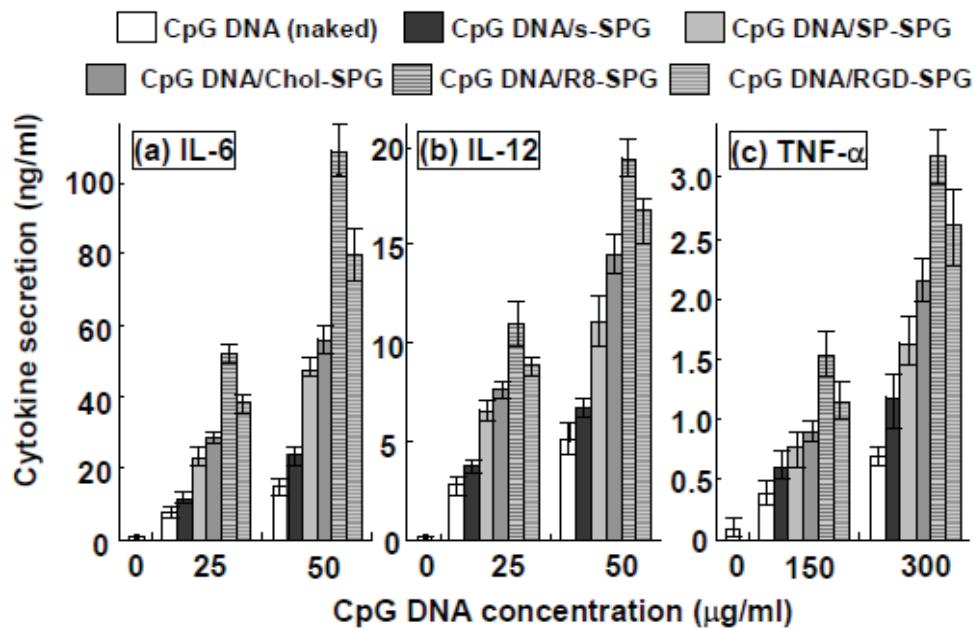


図2.16 Effect of chemical modification of SPG on CpG DNA mediated cytokine secretion. The murine macrophage-like cell J774.A1 (1×10^6 cells/mL, 100 l/well) was stimulated with 25 and 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for IL-6 and IL-12, and with 150 and 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for TNF- α . The amount of secretions was determined with ELISA kits, after incubated the cells in the presence of CpGDNA or its complex for 24h. The molar ratio (Ms-SPG/MODN) is fixed at 1.5.

3 プラスミド DNA デリバリーへの展開

[大阪市立大学大学院・工学研究科 長崎 健]

3.1 pDNA の DDS への期待と課題

2002 年 6 月にヒトゲノム解読のドラフトが公開され、そして 2003 年 4 月にはヒトゲノムの 99% の配列が 99.99% の精度で解読されたことは記憶に新しい人類の歴史上偉業の一つである²⁸⁾。このヒトゲノム配列解読の有効利用の一つに遺伝子治療を挙げることができる。つまり、遺伝子治療とは、病気の原因となる異常遺伝子を修復し、正常遺伝子に基づくタンパク発現により疾患を治癒させようとする治療法であり、異常遺伝子の判定にヒトゲノム配列は非常に有用な情報となる。現在治療法の無い疾患に対する根本治療法となる可能性を秘めており、大きな期待が寄せられている。

1990 年に米国 NIH でアデノシンデミナーゼ欠損症の単一遺伝子疾患に対して最初の遺伝子治療臨床研究が実施されてから、これまでに 1200 を超えるプロトコールに基づき 5000 名以上の患者が治療を受けている (Gene Therapy Clinical Trials Worldwide より、<http://www.wiley.co.uk/genmed/clinical/>)。この間、遺伝子治療の対象は単一遺伝子疾患のみならず、患者数が多いがんやエイズなどの感染症のほか、心血管障害などの生活習慣病関連の疾患にも広がりを見せている。しかし、臨床研究では有ってはならない重大事故が相次いで報告されている。1999 年 9 月に米ペンシルベニア大でオルニチントランスカルバミラーゼ欠損症の治療のため、正常な遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを注入する治療を受けた患者が、その 4 日後に多臓器不全で死亡した。治療用ウイルスベクターを体内に大量に注入することで、激しい免疫反応が起こり死につながった。また、2002 年 9 月と 12 月にフランスで 1994 年に X 連鎖重症複合免疫不全症の遺伝子治療を受けた患者に白血病が発症した。造血幹細胞に入れて投与した治療用レトロウイルスベクターが、造血幹細胞の増殖に関与する LMO-2 遺伝子の近傍に逆向きに挿入され、増殖能が異常に活性化されたことが原因と判明した。これら 2 件の事故は、共に発現効率が高い理由で使用されたウイルスベクターが原因となり発生した事故であり、より安全性に優れる非ウイルスベクターへの期待が一段と高まっている。非ウイルスベクターを用いた遺伝子治療ではプラスミド DNA (pDNA) 複合体が一般的に使用され、目的細胞のさらには転写反応が起こる核内までのデリバリー技術が必

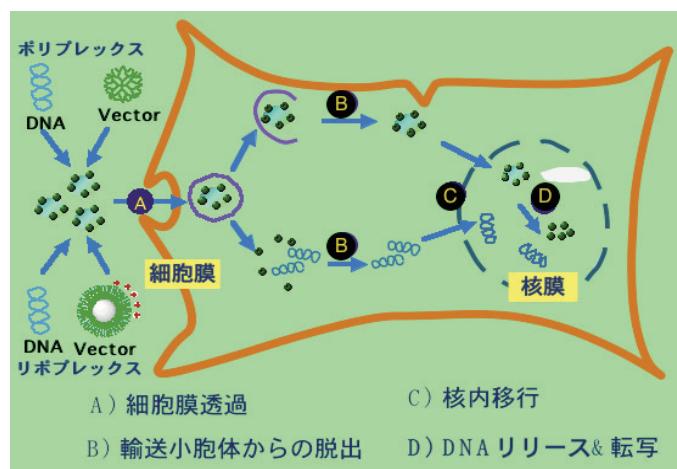


図3.1 非ウイルスベクターに対するタンパク発現までの障壁

²⁸⁾ International Human Genome Sequencing Consortium, "Finishing the euchromatic sequence of the human genome". *Nature*, 2004, **431**, p. 931-45

要とされる。しかし、現在のところ、非ウイルスベクターを用いたタンパク発現効率は特に *in vivo*においてウイルスベクターの効率よりも低く、遺伝子治療に用いるためにはより高い効率が求められている。図3.1に示すように、非ウイルスベクターの効率を向上させるためには

- A, 核酸複合体を如何に細胞内へ効率よく取り込ませるか
- B, 輸送小胞体から如何に効率よく細胞質へ脱出させるか
- C, 細胞質から核内に如何に効率よく移行させるか
- D, 核内で如何に転写出来る核酸分子の状態にするか

などの問題点を克服する必要があり、世界中で多くの研究者が安全で効率に優れた非ウイルスベクターの開発を目指して研究を行っている。

3.2 カチオン化 SPG を用いた遺伝子デリバリー²⁹⁾

遺伝子デリバリーの効率を決定づける重要な因子の一つが遺伝子の運び屋である「ベクター」の特性である。つまり、いかに効率よく核内まで安定に遺伝子を運び込み、効率よく転写させるか、そして細胞にストレスを与えないかがポイントとなる。

細胞へのストレスを考えた場合、天然物であるシゾフィラン (SPG) をベクターの骨格とすることは生分解性も含めて有利性を持つと思われる。本研究ではシゾフィランを基体とし、細胞毒性が低く効率の高いトランスフェクション剤の開発を目的とした。

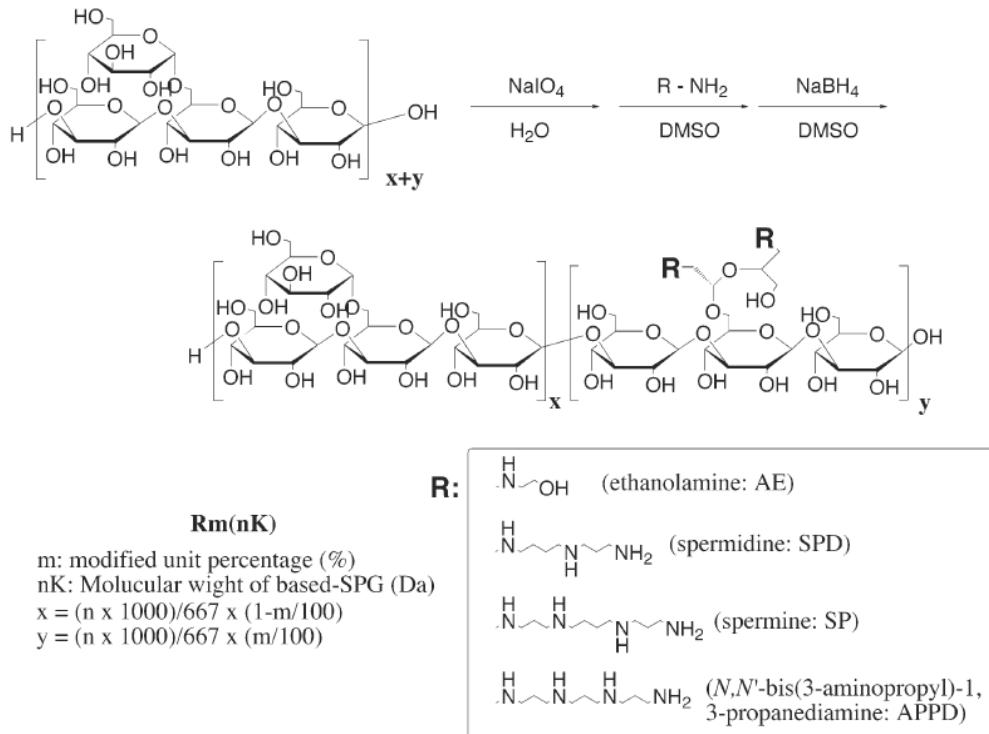


図3.2 各種アミン導入カチオン化シゾフィランの合成スキーム

²⁹⁾ Nagasaki, T., et al., "Long-Term Expression with Cationic Polymer Derived from a Natural Polysaccharide: Schizophyllan". *Bioconjugate Chem.*, 2004, **15**, p. 249-59

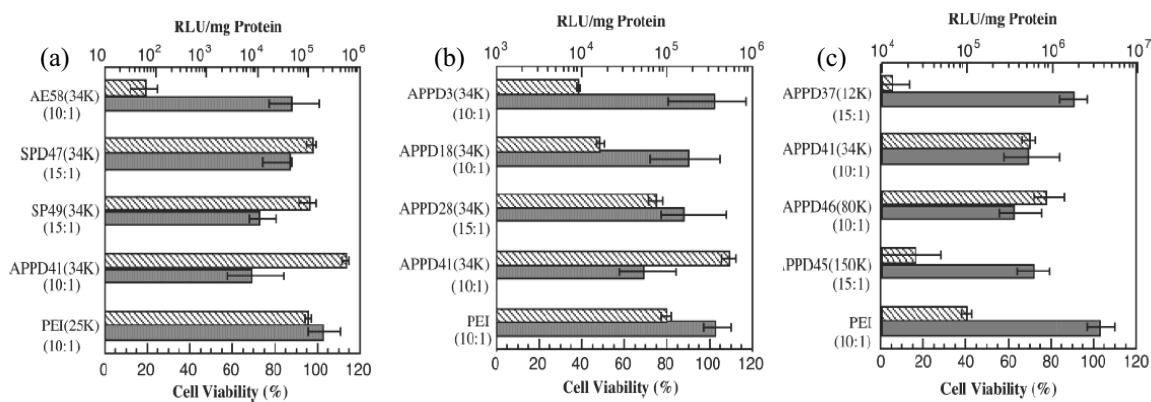


図3.3 カチオン化シグフィランのトランスフェクション活性(斜線)及び(グレー)に対するアミン構造(a)、修飾率(b)、骨格分子量(c)の影響

DNA 親和性さらには DNA 複合体の細胞膜への親和性を増強するために、シグフィランにアミンを導入したカチオン化シグフィラン誘導体を図 3.2 に従い合成し、そのトランスフェクション活性を評価した(図3.3)。その結果、導入するアミンはよりカチオン密度を高めることの出来るオリゴアミンの方がモノアミン体などより DNA 親和性が高くトランスフェクション活性も高いことが明らかとなった(図3.3a)。また、アミンの修飾率も高ければ高いほどよく、カチオン密度の重要性が確認された(図3.3b)。一方、基体となるシグフィランの分子量は適度な大きさを持つことがトランスフェクションの際に有利に働き、分子量の違いが DNA 複合体の特性に大きく影響することが解った(図3.3c)。共焦点蛍光顕微鏡を使用した遺伝子・キャリアーそれぞれの細胞内動態を評価した結果、細胞内でも複合体を形成したまま核内へより多く移行するキャリアーが発現効率は高い結果となった。しかし、その後の転写のための DNA リリースも重要な過程であり、DNA 複合体の特性が影響を与える結果も得られた。また、トランスフ

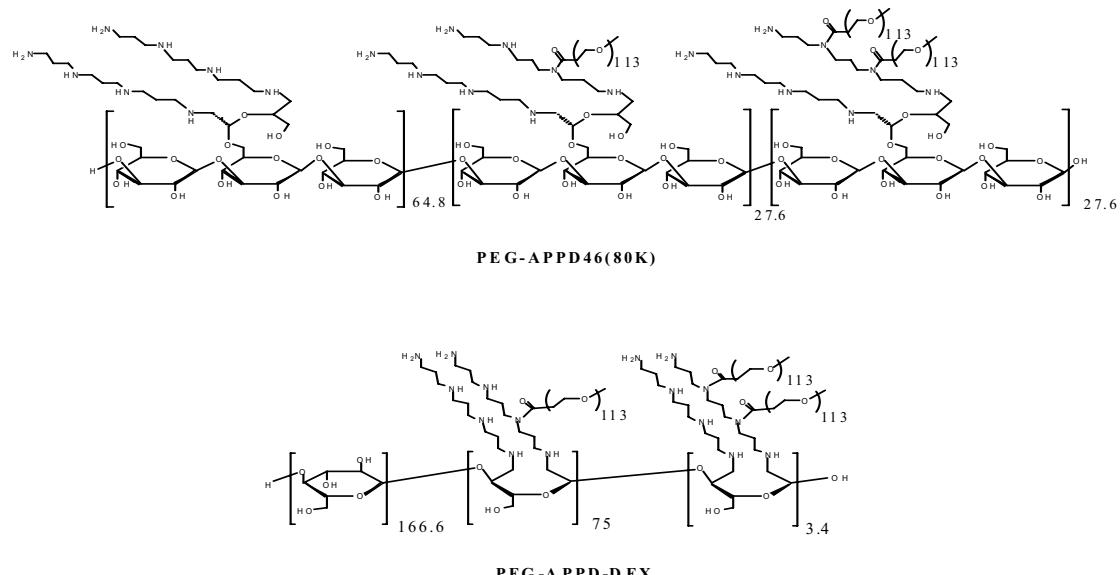


図3.4 ポリエチレングリコール修飾カチオン化シグフィランとその対照化合物

エクション条件下での細胞毒性を評価したところ、カチオン化シゾフィラン誘導体はトランسفエクション活性が高いモノほど細胞毒性も高い結果となった（図3.3）。

そこで、トランسفエクション能を維持しつつ、細胞毒性を低減するためにポリエチレングリコール修飾を行った（図3.4）。シゾフィランを基体とする β -（1,3）グルカン骨格構造が、デキストランを骨格とする類縁体よりも発現効率において僅かながら優れていることを明らかにした。また、 β -（1,3）グルカン骨格は通常哺乳細胞内にその分解酵素は存在せず、その分解は単なる加水分解反応で進行すると推測される。実際 *in vivo* の実験などでも生体内に長期間安定に存在することが知られている。そこで、細胞内に導入されたDNA複合体のキャリアー高分子が徐々に分解されプラスミドDNAが徐放されれば長期にわたって遺伝子の発現が持続すると期待でき、長期発現を評価した。それぞれの化合物を用い2日間培養したときに発現したルシフェラーゼ量を100%とし、より長時間培養時の相対発現量をプロットした（図3.5）。 α -（1,6）-グルカンであるデキストランは細胞内でデキストラナーゼなどにより酵素的に分解されやすい。また、ポリエチレン（PEI）は純合成ポリマーであり、その主鎖は細胞内では分解されることはないと考えられる。従って、細胞内でのカチオンポリマーの安定性は PEI > SPG > Dextran と考えられる。長期発現を検討した結果、SPGを基体とする化合物は14日後でも約40%の相対発現量を維持している。一方、Dextran骨格を有する化合物やPEIでは相対量が10%未満でありほぼ発現ルシフェラーゼは検出できなくなった。細胞内で速やかに分解されるDextranはDNA複合体が解離することで、プラスミドDNAがヌクレアーゼ耐性を失い分解が進行し、長期発現しないと考えられる。また、PEIは全く分解しないために安定な複合体を形成し続ける。しかし、DNAに結合したカチオンポリマーは転写阻害を起こすと思われ、初期の段階で転写可能なDNA複合体から発現が生じそれ以降は発現量が低下したと思われる。一方、SPGを基体とする場合、骨格が徐々に分解されていくために細胞内で転写に利用可能なDNAが長期に供給され続けるので、長期発現において高い活性を維持したと思われる。

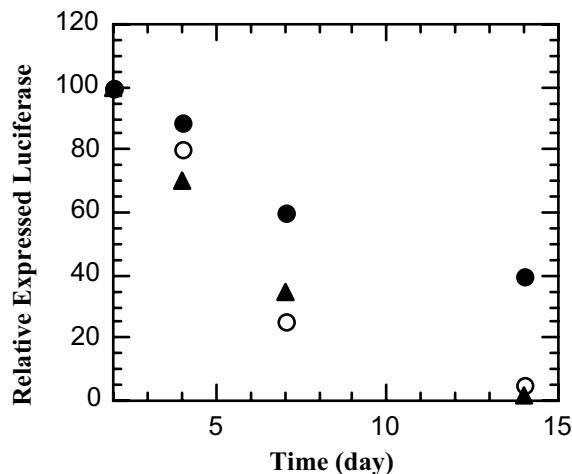
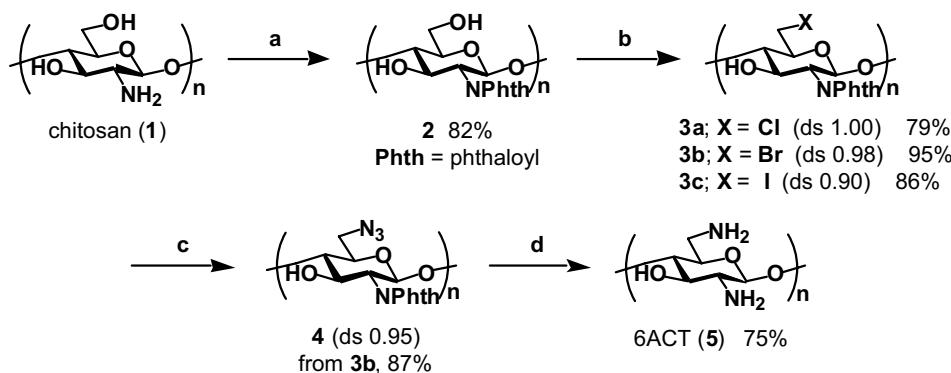


図3.5 カチオンポリマー骨格構造が長期発現に与える影響
ポリエチレングリコール修飾カチオン化シゾフィラン（●）
ポリエチレングリコール修飾カチオン化デキストラン（○）
PEI（▲）

3.3 天然ポリアミンを用いた遺伝子デリバリー³⁰⁾

キトサン（CT）は甲殻類や細菌の構成成分として自然界に豊富に存在するキチンから容易に得られる多糖である。生体親和性、生分解性、および低毒性などの性質を有する生体材料として魅力ある物質であり研究が盛んに行われている。そのような研究分野のひとつが核酸キャリアーとしての応用である。ポリアニオンである核酸はポリカチオンと静電相互作用により複合体を形成する。この性質を利用してポリカチオンを細胞内に核酸を送り込むためのキャリアーとして用いられている。CTを核酸キャリアーとする研究にもこれまでに多くの報告例がある。CTは生理条件下で不溶性であることから化学修飾による可溶化が提案してきた。また、CTだけでなく非ウィルス性核酸キャリアーのほとんどに共通する課題であるが、核酸導入効率向上の必要性が指摘されている。

本研究では、CTの生理条件下での可溶化および核酸導入効率の向上を目的として6-アミノ-6-デオキシキトサン（6ACT）の合成および核酸キャリアーとしての評価を行った³¹⁾。さらに6ACTへのガラクトース残基の導入によるトランスフェクション効率の向上に関するメカニズム解明を行った³²⁾。その結果、Lac6ACTのトランスフェクション効率は代表的なカチオン性高分子核酸キャリアーであるポリエチレンイミン（PEI）を上回ることが示された。しかしガラクトース残基を有することで期待されたアシアロ糖タンパク受容体（ASGP-R）経由の細胞取り込みの寄与は認められなかった。



a) i) phthalic anhydride, 2% acetic acid, rt, 12 h. ii) 2% NaHCO₃, phthalic anhydride, rt, 12 h. iii) 6 M HCl. b) N-halosuccinimide, triphenylphosphine, NMP, 80°C, 2 h. c) NaN₃, NMP, 80°C, 4 h. d) i) triphenylphosphine, NMP, rt, 12 h. ii) NH₂NH₂·H₂O, NMP–water (1:1), 100°C, 4 h.

図3.6 6ACT 合成スキーム

³⁰⁾ Satoh, T., et al., “6-Amino-6-deoxychitosan. Preparation and application as Plasmid Vector in COS-1 Cells”. *Chem. Lett.*, 2004, **33**, p. 340-41

³¹⁾ Satoh, T., et al., “6-Amino-6-deoxy-chitosan. Sequential Chemical Modifications at the C-6 Positions of N-Phthaloyl-chitosan and Evaluation as a Gene Carrier”. *Carbohydrate Res.*, 2006, **341**, p. 2406-13

³²⁾ Satoh, T., et al., “In vitro gene delivery to hepatocyte with galactosylated 6-amino-6-deoxychitosan as DNA carrier”, *Carbohydrate Res.*, submitted

CT から 6ACT への変換は 4 段階の反応からなる（図3.6）。いずれの反応も均一構造の生成物を与え、最終目的物である 6ACT を全収率 51%で得ることができた。CT が $pK_a=6.5$ で中性領域では不溶化するのに対し 6ACT は水溶性を維持する。このためプラスミド DNA 複合体 ($N/P=3$) の平均粒径は DLS 測定の結果からキトサン複合体の粒子径 (ca. 1 μm at pH 7.0) と比べて凝集体の生成による粒子径の増大が抑制された (ca. 0.2 μm at pH 7.0)。

6ACT と CT、および PEI の COS-1 細胞に対する細胞毒性試験の結果、CT と比較して 6ACT の顕著な細胞毒性の増大は認められなかった。トランスフェクション試験における使用濃度 (max 15 mg/L) ではいずれのポリカチオンも細胞毒性は見られなかった。6ACT の COS-1 細胞に対するトランスフェクション効率を CT と比較したところ、約 2.5 倍の向上が認められた（図3.7）。しかし PEI に比べると約 1/4 の効率にとどまり、さらに改良が必要であることが明らかとなった。

ポリカチオン主鎖を糖残基で修飾することにより、水溶性の向上、非特異的吸着の低減、細胞毒性の一層の低減、さらに糖受容体による細胞特異性の付与および取り込

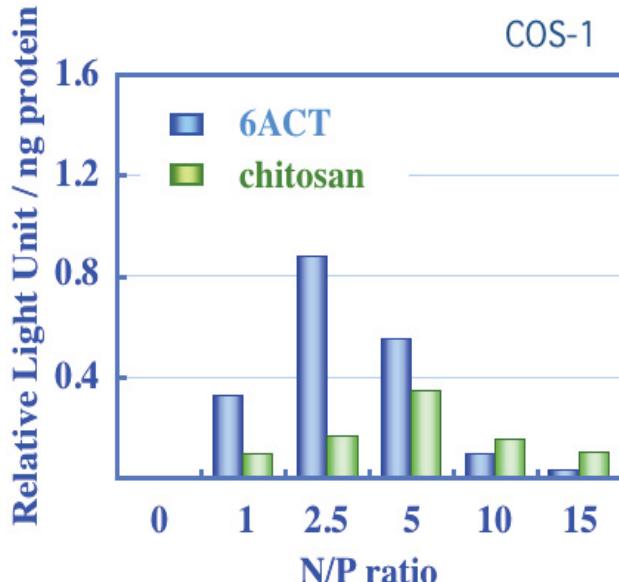
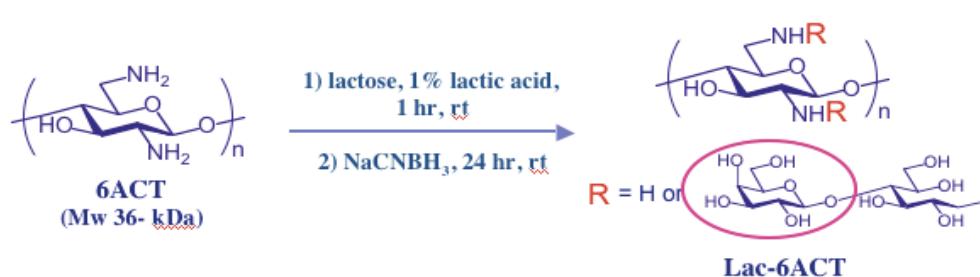


図3.7 COS-1 細胞へのキトサン(CT)および 6-アミノ-6-デオキシキトサン(6ACT)のトランスフェクション活性評価



Entry	Lactose (mol.eq. / pyranose)	% Substitution / pyranose *	Product code
1	0.05	3	Lac03-6ACT
2	0.2	18	Lac18-6ACT
3	0.3	25	Lac25-6ACT
4	0.5	38	Lac38-6ACT
5	1.0	50	Lac50-6ACT

*Percent substitutions were determined by elemental analysis.

図3.8 ラクトース修飾 6ACT の合成スキーム

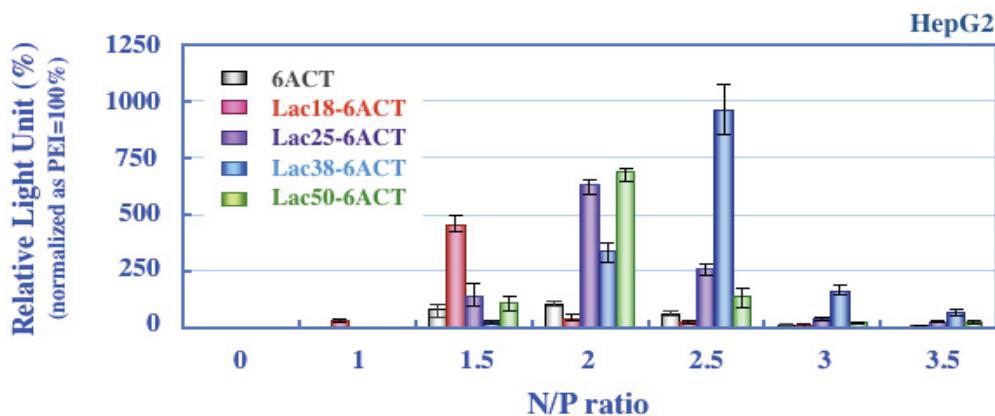


図3.9 HepG2 細胞に対するラクトース修飾 6ACT のトランスフェク活性評価

み効率の向上などの効果を期待することができる。そこで、6ACTへのガラクトース残基の導入を行い、アシアロ糖タンパク受容体（ASGP-R）を有する肝細胞特異性の付与を検討した。修飾方法として6ACTとラクトースの還元的アルキル化を用いた（図3.8）。原料ラクトース量に依存して6ACTのガラクトース残基修飾率を制御することができた。アガロースゲル電気泳動を用いたDNA親和性評価を行った。CTでは修飾率20%でプラスミドDNAとの複合体形成能力が著しく低下したが、アミノ基の密度が高い6ACTでは修飾率50%でも複合体形成能力は未修飾6ACTと同等の形成能力が維持された。

HepG2（ヒト肝がん細胞）に対するトランスフェクション試験の結果を図3.9に示す。トランスフェクション効率の変化はガラクトース修飾率に依存し、修飾率18-50%の範囲でPEIと同等、6ACTに対しては最大10倍の効率（Lac38-6ACT, N/P=2.5）に達した。一方でガラクトース残基導入に伴うトランスフェクション効率の向上は肝細胞由来ではないHeLa D98（ヒト子宮頸がん細胞）やA549（ヒト肺がん細胞）でも観察され、細胞特異性は認められなかった。また、培地への遊離ラクトース添加によるASGP-Rの阻害実験においてもトランスフェクション効率は変化が見られなかった。さらにフローサイトメトリーにより評価した細胞内導入効率への影響においてもラクトースによる阻害は認められなかった。以上の結果は、Lc6ACTによるトランスフェクション効率の向上にはASGP-Rを介した細胞取り込み経路の関与が小さいことを示

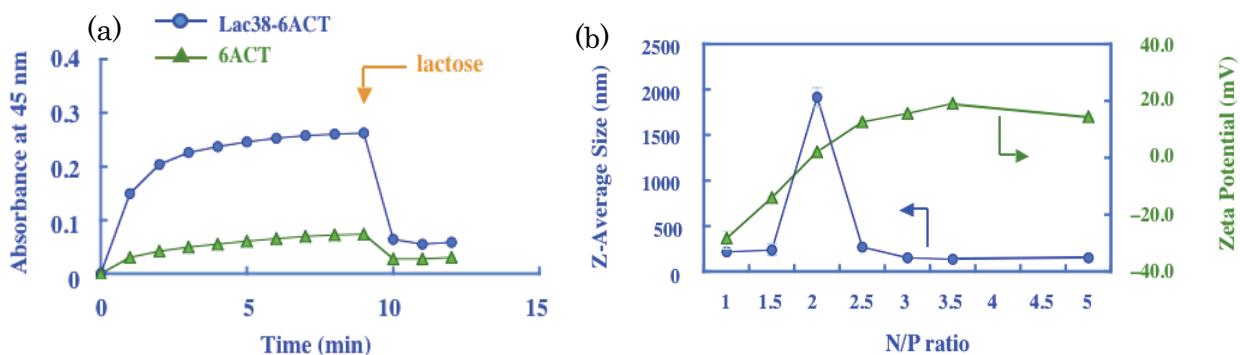


図3.10 Lac38-6ACT のガラクトース認識レクチンとの相互作用(a) および DNA 複合体の粒子径とゼータ電位(b)

すものである。さらに、HepG2細胞に対するトランスフェクション活性の糖修飾による増強はラクトース特異的ではなく、マルトース修飾体でも同様の活性向上が見られた。

ガラクトース認識レクチンである RCA120 存在下での濁度測定による凝集挙動を観察したところ Lac38-6ACT は RCA120 と相互作用していることが判明した(図3.10a)。また、DNA複合体の粒子径測定とゼータ電位測定の結果から、トランスフェクション活性の高い N/P 領域では Lac38-6ACT は 1 μm 以上の大粒子に凝集している。クラスリン経由のエンドサイトーシスでは 100 nm 程度の粒子が取り込まれ、それ以上の粒子はほとんど取り込まれないことが知られている。以上の結果より、今回糖修飾を行うことで、6ACT のトランスフェクション活性が向上した要因は、レセプター媒介型エンドサイトーシスによる細胞内導入効率の向上が要因ではなく、エンドソーム脱出や核内移行などの細胞内動態において、有利に作用したと考えられる。

3.4 デュアルリガンドを用いた遺伝子デリバリー³³⁾

非ウィルスベクター法において、細胞内への取り込み・輸送小胞からの脱出・細胞質内でのヌクレアーゼ耐性・核内移行・核内での DNA のリリースといった各段階での効率の低さが、問題点として考えられている。その最初の問題点である細胞内への取り込み効率を促進するための方法として、細胞膜表面に存在しエンドサイトーシスを誘導するレセプターに対する結合因子を非ウィルスベクターに導入することによって、細胞内への遺伝子導入効率を向上できることがすでに多くの研究者により報告されている。

本研究では、レセプター結合因子としてトランスフェリン (Tf), トランスフォーミンググロースファクターα (TGF) をビオチン-ストレプトアビジン (StAv) の強い相互作用 ($K_d=10^{-15} M$) を利用して、それぞれ非ウィルスベクターに導入し、プラスミドDNA (pDNA) と複合体を形成させた。これらの複合体を用いて、培養細胞内への遺伝子取り込みおよび発現効率の検討し、さらに遺伝子取り込みへのそれぞれのレセプターの関与についても検討を行った。

まず、数種の細胞種 (A549, CHO-K1, COS-1 (サル腎臓がん細胞), COS-7(サル腎臓がん細胞), HeLaD98 (ヒト子宮頸がん細胞), HepG2 (ヒト肝がん細胞)) での、トランスフェリン導入 pDNA 複合体 (Tf-Polyplex) および TGF 導入 pDNA 複合体 (TGF-Polyplex) の遺伝子発現効率の向上効果について、ルシフェラーゼアッセイによって評価した。その結果、細胞種により高い遺伝子発現効率の向上が見られる細胞がある一方で、ほとんど効率の向上が見られない細胞種も確認できた。一因として、レセプターの有無やエンドサイトーシス効率の差により遺伝子発現効率の向上率に差が表れたと考えられる。

³³⁾ Kakimoto, S., "Dual-ligand effect of transferrin and transforming growth factor alpha on polyethyleneimine-mediated gene delivery", *J. Control. Release*, submitted

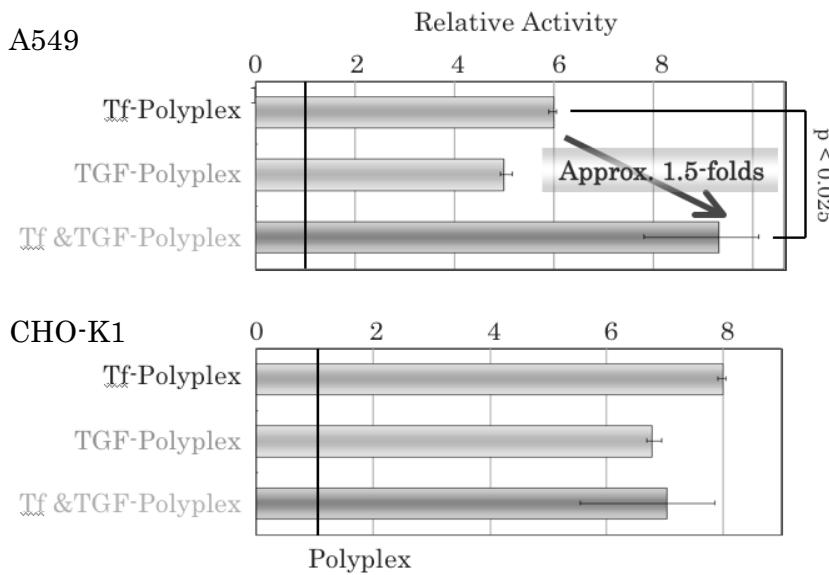


図3.11 A549 および CHO-K1 細胞に対するデュアルリガンド効果

図3.11には、Tf-Polyplex, TGF-Polyplex で遺伝子発現効率の向上率が高かった A549, CHO-K1 細胞で、さらにデュアルレセプター結合因子を導入したハイブリッド複合体である Tf&TGF-Polyplex による遺伝子発現効率の向上率について、ルシフェラーゼアッセイによって得られた結果を示した。A549 細胞では、最適化された Tf-Polyplex (N/P=7.5, 36 Tf/pDNA), TGF-Polyplex (N/P=5, 18 TGF/pDNA)により、レセプター結合因子非存在下と比較し、それぞれ約 6 倍, 5 倍の遺伝子発現効率の向上が認められたのに対し、最適化された Tf&TGF-Polyplex (N/P=7.5, 9 Tf/pDNA, 18 TGF/pDNA)ではさらに Tf-Polyplex の約 1.5 倍の遺伝子発現効率が確認された。しかし、CHO-K1 では、Tf&TGF-Polyplex での遺伝子発現効率の向上は確認できず、Tf-Polyplex, TGF-Polyplex とほぼ同等の遺伝子発現効率しか得られなかった。

これら A549, CHO-K1 細胞での Tf, TGF それぞれのレセプターである Tf レセプター, EGF レセプターの有無をウェスタンプロットティングで評価した結果を図 3.12 に示す。

A549 細胞では、Tf レセプター, EGF レセプター共に存在していることが明らかになったが、CHO-K1 細胞では Tf レセプターは存在しているものの EGF レセプターの存在は確認できなかった。これらの結果は、過去の知見とも一致した。

CHO-K1 細胞において、EGF レセプターが存在していないにも関わらず、TGF-Polyplex での遺伝子発現効率の向上が見られた原因はまだ不明であるが、TGF 導入による

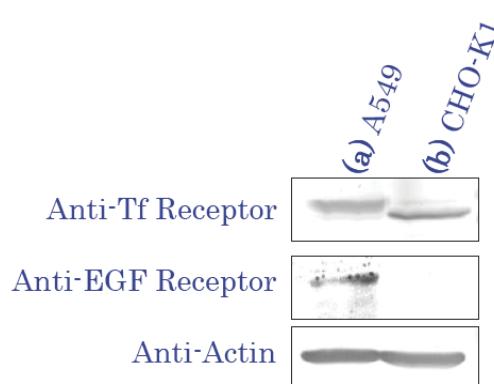


図3.12 ウェスタンプロットティングによる A549 および CHO-K1 細胞におけるレセプターパクの発現確認

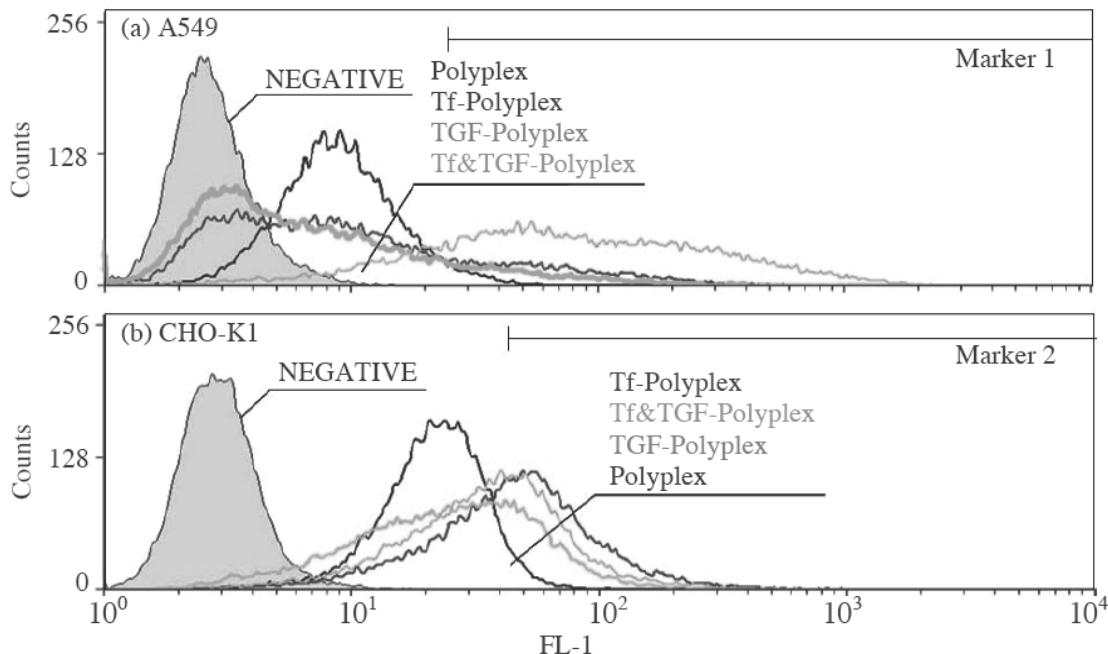


図3.13 A549, CHO-K1 細胞でのそれぞれの複合体の取り込み量

Polyplex の物理的性質の変化が影響しているのではないかと思われる。

続いて、図3.13 に、Tf&TGF-Polyplex で遺伝子発現効率向上の要因を検討するためには、A549, CHO-K1 細胞でのそれぞれの複合体の取り込み量をフローサイトメトリーにより評価した結果を示す。遺伝子発現効率の向上が確認できた A549 では、Tf&TGF-Polyplex での細胞内への取り込み効率の向上が確認できた。Marker 1 内の細胞の割合は、Polyplex では 5 % に対して、Tf-Polyplex で 21 %, TGF-Polyplex で 14 %, Tf&TGF-Polyplex で 78 % であり、複数のレセプター結合因子の導入によってさらなる取り込み量の向上が確認され、これが遺伝子発現効率の一因と考えられる。一方、CHO-K1 では、Marker 2 内の細胞の割合は、Polyplex 5 % に対して、Tf-Polyplex 52 %, TGF-Polyplex 25 %, Tf&TGF-Polyplex 39 % となり、Tf&TGF-Polyplex での取り込み効率の向上は見られなかった。

さらに、過剰 Tf, TGF を添加しレセプターをブロックすることで、Tf&TGF-Polyplex の取り込みへのレセプターの関与を評価した結果を図3.14 に示した。その結果、遺伝子発現効率の向上が確認できた A549 細胞では、過剰 Tf, TGF それぞれの添加で約 90, 60 % と高い取り込み阻害が見られ、Tf&TGF-Polyplex の取り込みにそれぞれのレセプターが関与していることが確認できた。一方、CHO-K1 細胞では、過剰 Tf, TGF の添加で約 30 % の阻害しか見られず、コントロールとして行った過剰 BSA 添加での阻害率とほぼ同等であった。これより、CHO-K1 細胞では Tf&TGF-Polyplex の取り込みにそれぞれのレセプターが関与していないことが確認できた。つまり、レセプターの関与が、複数のレセプター結合因子の導入による遺伝子発現・取り込み効率の向上に重要であると考えられる。

本研究では、pDNA/PEI 複合体に複数のレセプター結合因子を導入することによって、一種のレセプター結合因子を導入した複合体と比較して高い遺伝子発現効率を示す

細胞種が存在することを見いだした。さらに、この要因として、遺伝子発現効率の向上が見られる細胞種では、複数のレセプター結合因子を導入することによって、細胞内への取り込み効率がさらに向上することを明らかにした。これより、遺伝子導入効率の向上が遺伝子発現効率向上の一因となっていると考えられる。また、複数のレセプター結合因子の導入による遺伝子発現・取り込み効率の向上には、レセプターを介して取り込まれることが重要であることを明らかにした。

3.5 核内移行因子を用いた遺伝子デリバリー³⁴⁾

非ウイルスベクターを用いる場合、なかでも特に非分裂細胞へ導入発現する場合には核膜が大きな障壁となり、いかに外部遺伝子の核内移行を促進するかが、発現効率に影響を与える。これまでに、核タンパク質の核内移行機構を利用した遺伝子デリバリーシステムとして核局在化シグナル（NLS）ペプチドの利用が多くの研究者により報告されている³⁵⁾。しかし NLS ペプチドを利用した DNA の核内移行および発現促進システムは未だ確立されていない³⁶⁾。我々は核タンパクの核内移行システムの効率的応用を目指し、輸送体そのものである核内移行因子（インポーティンβファミリー）を直接利用するシステムを新規に構築し、核膜透過能を付与した非ウイルスベクターの開発を目指している。作製したインポーティンβコンジュゲートベクターはインポーティンβによってプラスミド DNA の核膜孔を経る核内移行が促進され、非ウイルスベクターにおける最大の問題点を解決することに成功した。また、他の機能性ベクターとしてプラスミド DNA を細胞質に直接かつ効率的に送達可能なセンダイウイルスエンベロープ(HVJ-E)ベクター³⁷⁾とのハイブリッド化により細胞膜と核膜両方の透過能を有する非ウイルスベクターを作製し、遺伝子発現効率の向上に成功した。

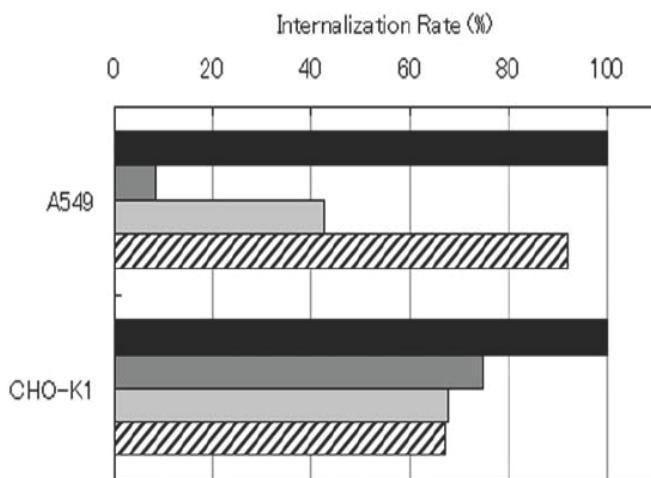


図3.14 A549 および CHO-K1 細胞における Tf&TGF-Polyplex の取り込み阻害実験: 阻害剤はそれぞれ上から、なし・トランスフェリン・TGF・BSA の順

³⁴⁾ Nagasaki, T., et al., "Enhanced nuclear import and transfection efficiency of plasmid DNA using streptavidin-fused importin- β ". *J. Control. Release*, 2005, **103**, p. 119-207.

³⁵⁾ Kawazu, T., et al., "Active Transport of Exogenous Genes into the Nucleus"; the chapter for Non-viral Gene Therapy: Gene Design and Delivery, Springer-Verlag, Tokyo, 2005, p. 176-86

³⁶⁾ Nagasaki, T., et al., "Can nuclear localization signals enhance nuclear localization of plasmid DNA?", *Bioconjugate Chem.*, 2003, **14**, p. 282-86.

³⁷⁾ Kaneda, Y., "Hemagglutinating virus of Japan (HVJ) envelope vector as a versatile gene delivery system". *Mol. Ther.*, 2002, **6**, p. 219-26

プラスミド DNA とインポーティン β のコンジュゲート化にはビオチン-ストレプトアビジン相互作用を利用した。すなわち化学修飾により分岐型ポリエチレンイミン(PEI, Mw25,000)をビオチン化し、1分子当たり 1.5 個のビオチンを導入したビオチン化 PEI(b-PEI) を調製した。一方、ストレプトアビジンとインポーティン β の融合タンパク質 (β S) を遺伝子工学的に作製した。そして、プラスミドと b-PEI のポリイオンコンプレックスを形成後、 β S を添加しコンジュゲート化を行った。

in vitro 核内移行活性は NIH3T3 (マウス胎児纖維芽) 細胞を用いたマイクロインジェクション実験により評価した。*in vitro* トランスフェクション活性は NIH3T3 細胞を用い、ルシフェラーゼをコードするプラスミド DNA(pGL3、プロメガ社) と b-PEI の複合体を調製し、その後 β S を添加しコンジュゲート化を行い、細胞への導入を行った。細胞培養培地に DNA 複合体を添加後、3 時間培養を行い細胞内へ取り込ませた。その後培地を交換し、さらに 48 時間培養後に細胞溶解液中のルシフェラーゼ活性をプロメガ社製キット (Steady-Glo® Luciferase Assay Kit) を用い測定した。また、このコンジュゲート体の HVJ-E への封入は HVJ-E ベクターのプロトコールに従い行った。

まず融合タンパクの核内移行能を評価した。核膜孔複合体 (NPC) のブロッキング剤と知られている小麦胚芽凝集素 (WGA) が存在しない場合、融合タンパクは細胞質へのインジェクションの 1 時間後に核内への集積が認められた (図3.15, WGA(-))。しかし、WGA 存在下では核内移行が阻害され核膜周辺領域に融合タンパクが局在しており (図3.15, WGA(+))、融合タンパクの核内移行は NPC を経由していることが解る。

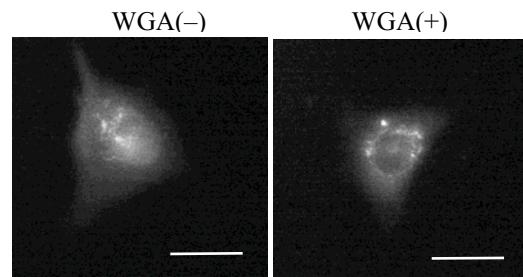


図3.15 マイクロインジェクション法によるストレプトアビジンとインポーティン β の融合タンパク質 (β S) の核内移行能評価

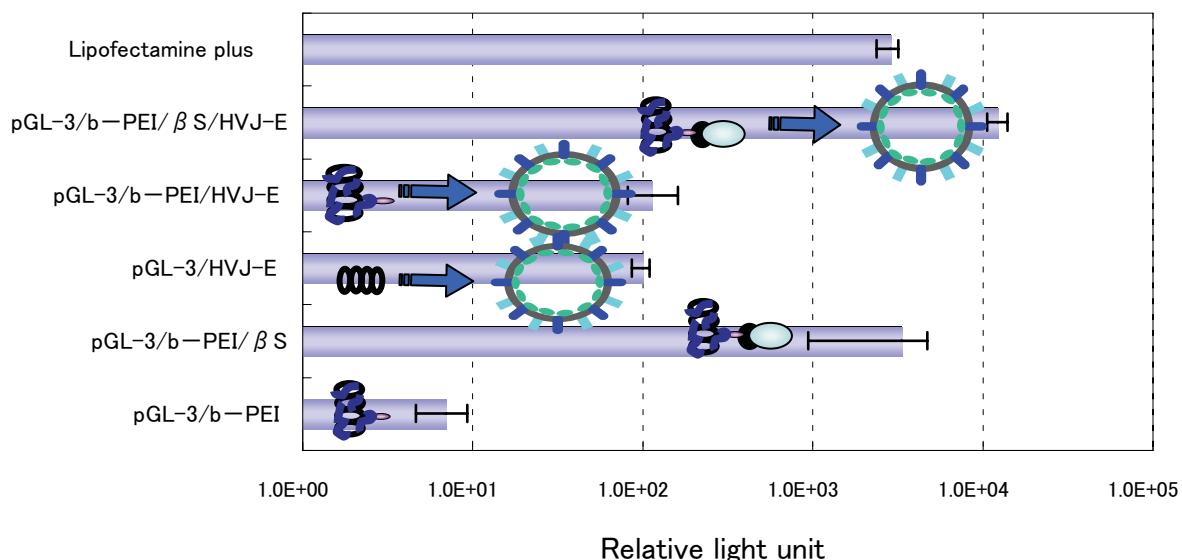


図3.16 核内移行性 PEI/DNA 複合体とセンダイウイルスエンベロープ(HVJ-E)ベクターのハイブリッド化による NIH3T3 細胞へのトランスフェクション

高いカチオン密度を有し、エンドソームやリソソーム内の pH 領域である弱酸性領域での pH 緩衝能が高い PEI はエンドサイトーシスによる細胞内導入後の分解経路であるエンドソームからの脱出促進能が高く *in vitro*, *in vivo* で優れた遺伝子導入剤として機能することが知られている。しかし、PEI/DNA 複合体には積極的な核内移行システムは備えられていないので、核内移行タンパクによる核内促進により、より優れた遺伝子導入剤として機能することが期待される。そこで、pGL3/b-PEI/β S 三元複合体を形成し、NIH3T3 細胞へのトランスフェクション活性を評価した（図 3.16）。pGL3/b-PEI 複合体と比較し、β S 存在下ではトランスフェクション効率が約 500 倍向上した。PEI 本来のエンドソーム脱出能に核内移行能が付与することで、非常に大きな発現向上が達成されたと考えられる。さらに、細胞質から核内への移行効率が向上した PEI/DNA 複合体の細胞質への導入効率を高めることができれば、より優れた非ウイルスベクターとして機能することが期待できる。そこで、細胞膜との膜融合能が高く、エンベロープ内の封入物を直接細胞質に送達可能な HVJ-E を利用し、核内移行性 pGL3/b-PEI/β S 三元複合体とのハイブリッド化を試みた。HVJ-E のサイズは 200-300 nm であり、また核膜孔を通過する物質の中で最大サイズは SV40 ウィルスの 50 nm であることを考えると、HVJ-E への封入効率および核膜孔を経る核内移行には DNA 複合体のサイズが大きく影響を与えると予想される。実際に pGL3/b-PEI 複合体を動的光散乱法により測定したところ、平均粒径は 69 nm であり、50 nm 以下の粒子も多く含まれることが明らかとなった。次にトランスフェクション活性評価を行ったところ、核内移行性を有さない pGL3/b-PEI 複合体を HVJ-E に封入した場合は、HVJ-E を使用していない核内移行性 pGL3/b-PEI/β S 三元複合体よりも低く、PEI/DNA 複合体にとって核内移行段階がタンパク発現までの大きな障壁となっていることが明らかとなった。一方、pGL3/b-PEI/β S 三元複合体を HVJ-E に封入した場合は封入しない場合の 4 倍、また、β S 非存在下の 110 倍もの高い発現効率を示した。

以上のように、核内移行因子の直接的利用およびセンダイウイルスエンベロープベクターとのハイブリッド化により非ウイルスベクターの効率を大幅に向上することに成功した。本システムは分子生物学や細胞生物学の基礎学術分野ばかりでなく細胞工学や遺伝子治療などの医学応用分野にも大きく貢献可能であると考えている。

3.6 刺激応答性の遺伝子キャリヤー^{38, 39)}

安全面で優位な非ウイルスベクターに大きな期待が寄せられているが、その効率は現在のところ満足出来るものではない。その問題点として細胞内動態制御に大きな関心が寄せられている。つまり、非ウイルスベクターは一般にエンドサイトーシスにより細胞内へ取り込まれる。従って、エンドソームなどの輸送小胞体からの脱出が必要不可欠と

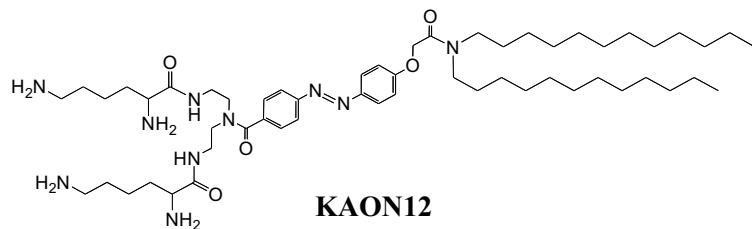
³⁸⁾ Nagasaki, T., "Active DNA Release from Complexes; the chapter for Non-viral Gene Therapy: Gene Design and Delivery"; the chapter for Non-viral Gene Therapy: Gene Design and Delivery, Springer-Verlag, Tokyo, 2005, p. 155-64.

³⁹⁾ Nagasaki, T., et al., "The Concept of Molecular Machinery Is Useful for Design of Stimuli-Responsive Gene Delivery Systems in the Mammalian Cell", *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 2007, in press

なる。更に最終的な転写過程が進行する核内への移行が外部遺伝子の発現には必要である。また、細胞内でのスクレアーゼ耐性も大きな課題であり、転写反応の際にはキャリアー化合物との解離も要求される。我々は、これらの障壁を克服するために刺激応答性遺伝子デリバリーシステムの構築を目指し研究を進めている⁴⁰⁾。つまり、時間的空間的制御が可能な外部刺激を用い非ウイルスベクターの効率を向上させるために、膜融合によるエンドソーム脱出能や遺伝子のリリース能を付与することを目的としている。

本研究では、遺伝子キャリアーとして機能するカチオン脂質に光感受性構造を導入し、光照射により分子集合形態の変化を誘起し、分子集合体の形態変化観察を行った。また、光感受性脂質の分子集合体形成能低下に基づく膜構造の不安定化、さらには輸送小胞との膜融合によるエンドソーム脱出促進を期待し、トランスフェクション活性の光制御を検討した⁴¹⁾。

親水部に塩基性アミノ酸であるリジンを2残基、疎水部にはジドデシルアミド基、そしてそれらのスペーサーとしてフォトクロミック構造であるアゾベンゼン骨格を有する塩基性カチオン脂質 KAON12 を合成し、元素分析、¹H-NMR、マススペクトル [FAB-MS(+)] m/z 977.9 (M+H)⁺; calcd for C₅₅H₉₇N₁₀O₅, 977.77] により構造を同定した。光応答性脂質が形成する分子集合形態の光制御を行うために、分子集合体自体は比較的不安定であるが大きな構造変化が期待される KAON12 のみからなる小さな一枚膜リポソーム (SUV) と、相対的に安定でかつ種々の観察が容易なリン脂質と混合したジャイアントベシクル (GUV) をそれぞれ調製し、光照射を行った。SUVへの光照射は UVランプ (365 nm, 3.5 mWcm⁻²) を用い、透過型電子顕微鏡により観察した。一方、GUV は細胞サイズの大きさを有し、光学顕微鏡にて直接観察可能である。そこで、蛍光顕微鏡のフィルターユニットを用いて UV(365 nm) もしくは可視光(540 nm) の照射を行い、形態観察を行った。また、動物細胞が外部物質を細胞内へ取り込む機構であるエンドサイトーシス (貪食作用) は取り込む対象のサイズに依存することが知られており、SUV とルシフェラーゼをコードするプラスミド DNA(pGL3、プロメガ社)との複合体を調製し、アフリカ緑ザル腎細胞 (COS-1) 細胞への導入を行った。細胞培養培地上清に DNA 複合体を添加後 3 時間培養を行い細胞内へ取り込ませた後、培地を交換し、培養プレート底面より UV ランプを照射 (365nm, 3.5mWcm⁻², 10min) することでトランスフェクションへの光照射効果を検討した。その後、48 時間培養後に細胞溶



⁴⁰⁾ Nagasaki, T., et al., "Photo-enhancement of transfection efficiency using novel cationic lipids having photo-cleavable spacer". *Bioconjugate Chem.*, 2003, **14**, p. 513-16

⁴¹⁾ Nagasaki, T., et al., "Photo-enhancement of transfection efficiency with a novel azobenzene-based cationic lipid". *Chem. Lett.*, 2003, **32**, 88-89

解液中のルシフェラーゼ活性をプロメガ社製キット(Steady-Glo® Luciferase Assay Kit)を用いて測定した。

KAON12のみからなる小さな一枚膜リポソーム(SUV)はクロロホルム溶液から溶媒を徐々に留去しナスフラスコ壁面に薄膜を形成後、終濃度10mMとなるように100mMリン酸緩衝液を加え、浴槽型超音波処理を45°Cで行い調製した。SUV溶液を遮光化室温で24時間放置したサンプルをトランス溶液とした。この溶液に365nmのUV光(3.5 mWcm^{-2})を5分間照射した溶液をシス溶液(trans/cis=43/57)とした。SUVは動的光散乱の結果より、トランス溶液では平均粒径29nmであるのに対し、シス溶液では290nmとなり、平均粒径の増大が観察された。この時の構造変化を透過型電子顕微鏡(日立H-7000)にて観察した(図3.17)。UV光照射前では20-30nmの均一な小胞構造のみが見られるのに対して、照射後は膜融合により大きなベシクル形成や纖維状構造が見られる。屈曲率が大きく不安定なSUVにおいては、UV光照射によるトランス体からシス体へのアゾベンゼンの光異性化に伴い、分子集合形態に大きな変化が誘起されることが明らかとなった。

次に、ジオレイルホスファチジルコリン(DOPC)/KAON12=5/3の混合薄膜から静置水和法によりGUVを調製した。この溶液をSUV溶液と同様に遮光下室温で24時間放置したサンプルをトランス溶液とし、365 nmのUV光(3.5 mWcm^{-2})を5分間照射した溶液をシス溶液(trans/cis=20/80)とした。また、GUV溶液を位相差顕微鏡により直接観察し、UV光照射、可視光照射時の構造変化を30 frames/sでビデオ撮影した⁴²⁾。GUVは直径10-20μmのサイズで得られ、トランス溶液はほぼ球形の歪みのない小胞が観察された。一方、シス溶液では小胞は平均的に凸凹が観察され、揺らぎが見られた。また、興味深いことに洋ナシ型のベシクルでは光により小さなベシクルの発芽挙動が見られ、これらの挙動はUV光-可視光により可逆的に変化した(図3.18)。そこで、GUV作成時と同組成の単分子膜を用いて、Π-Aカーブの測定を行った。一般に二分子膜の水平圧とされる $30\text{-}40 \text{ Nm}^{-1}$ の圧力一定下で、トランス溶液に対してシス溶液は占有面積が11%増加することが明らかとなり、膜は膨張することが明らかとなった。二分子膜の内膜と外膜では光応答性脂質の数が異なるので、この分子断面積の変化が膜構

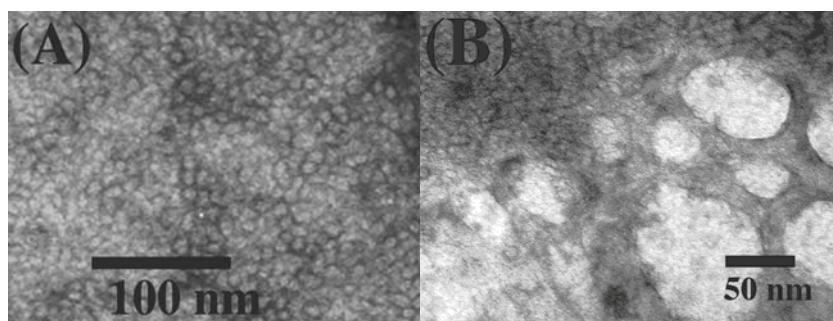


図3.17 アゾベンゼンのシス-トランス光異性化による光応答性カチオン脂質の分子集合形態の変化 トランス体(A)、シス体(B)

⁴²⁾ Hamada, T., et al., "Reversible photoswitching in a cell-sized vesicle. *Langmuir*, 2005, 21, p. 7626-28

造の巨視的変化を誘起しているものと思われる。そして、膜構造の揺らぎが増大することで不安定化し膜融合などの誘起につながっていることが予想される。

次に、SUV 溶液とプラスミド DNA 溶液を混合し、複合体を形成後、細胞培地に添加し遺伝子導入を行った。市販のカチオン脂質の中でも古くから多用されているリポフェクチン（インビトロジェン社）を非ウイルスベクターの光非感受性比較物質として用いた。遺伝子デリバリーではエンドサイトーシスで細胞内へ侵入後、そのままではリソームへ移行後に酸加水分解されてしまうため、エンドソームからの脱出が発現効率に大きく影響を与えることが知られている。そこで、培地添加 3 時間後、複合体がエンドソームに最も集積しているタイミングでトランス体からシス体への構造変化を UV 光照射により誘起し、エンドソーム脱出促進を試みた。

最終的な発現タンパク量で評価した場合、光感受性脂質である KAON12 を用い、光照射を行うと、光照射なしの場合と比較し 2 倍以上の発現効率の向上が見られた（図3.19）。一方、光非感受性のリポフェクチンでは UV 光照射を行っても有意な発現効率向上は観察されなかった。光感受性カチオン脂質による分子集合形態変化がエンドソーム膜との膜融合などによりエンドソーム膜の不安定化を誘起し、プラスミド DNA のエンドソームから細胞質への脱出を促進し、その結果タンパク発現量が増大したものと思われる。

アゾベンゼンを基体とする光感受性脂質はトランスースシスの構造変化によりその分子集合体の形態が大きく変化することが明らかとなった。この変化は光異性化による分子占有面積の変化に基づく。またこの変化により他の二分子膜との融合などが誘起され、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれた場合にはエンドソーム膜との融合により、薬物の細胞内輸送にも大きな影響を与える。今回、外部遺伝子の導入・発現効率を評価した結果、UV 光照射によりトランスフェクション効率を向上させることに成功した。*in vivo* での検討を考慮した場合現在用いている照射光の波長（紫外光）では浸透性が低く、また細胞障害性の危惧も残されている。今後、より長波長の光を利用した光応答性デリバリーシステムの開発が望まれる。

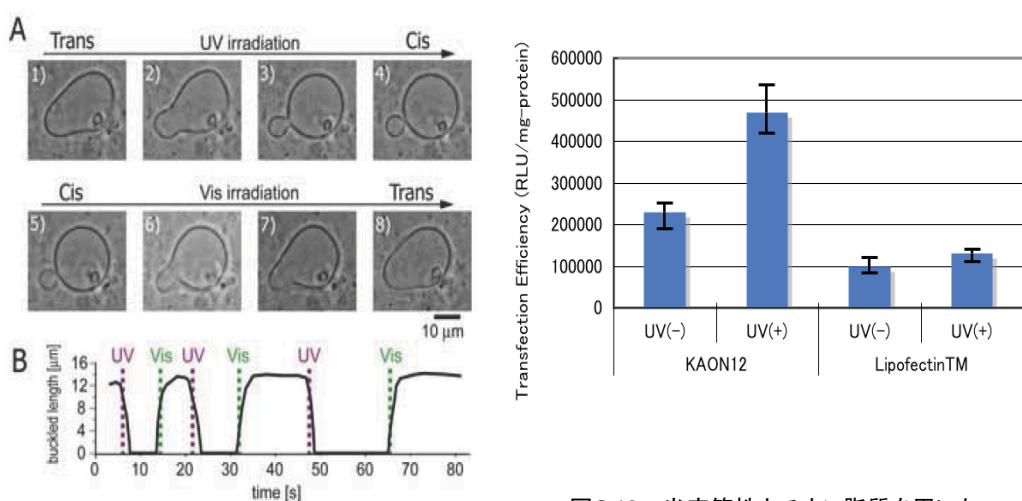


図3.18 光応答性カチオン脂質を含む
ジャイアントベシクルの発芽挙動

図3.19 光応答性カチオン脂質を用いた
トランスフェクション活性光制御

4 メッセンジャーRNA 分離システムの開発

[福岡県工業技術センター・生物食品研究所 木村 太郎]

4.1 mRNA 分離システム開発の目標

本章では、シゾフィラン (SPG) を用いた新規核酸分離システムの研究開発について報告する。特に真核生物のメッセンジャーRNA (mRNA) を効率よく分離抽出するためのシステムを構築することを最終的な目標とした。

一般に生体試料から DNA や RNA を抽出するにはフェノール処理法、アルコール沈殿、カオトロピック塩存在下におけるシリカゲルへの吸着、といった方法が確立されている。しかし、これらの方法では核酸の塩基配列による選択的な分離を行うことは不可能である。特定の塩基配列を持つ核酸を分離するためには、相補的な DNA をリガンドとした塩基対形成による方法が一般的である。例えば、oligo(dT)や poly(U)を担体に結合したアフィニティーカラムは poly(A)配列に対して選択的に塩基対を形成するので、poly(A)部分を含む mRNA や核タンパク質の分離に利用されている。しかし、これらの方法は総じて DNA を材料とするため比較的高価であるという欠点がある。SPG は大量調製が可能な多糖類であり、相補的塩基対形成によらないで核酸の識別を行うことが出来るため、従来技術の欠点を補うことが期待出来る⁴³⁾。

SPG は、核酸の塩基組成に対して高い選択性を持ち、均一な塩基組成を有する一部の合成核酸 (poly(C)、poly(A)等) とは複合体を形成するが、ほとんどの天然のヘテロ核酸とは複合体を形成しない。しかし、今回分離対象とする真核生物の mRNA には 3' 末端に 50-150 量体の poly(A) tail と呼ばれる領域が存在することが知られている。SPG は poly(A)配列との複合体形成能を有しているため、mRNA の poly(A) tail 領域と複合体を形成し、これにより選択的な分離抽出が期待される (図4.1)。mRNA はタンパク質の遺伝情報を直接コードする核酸であるため、様々なバイオテクノロジーで分離抽出の需要が高い。特にマイクロアレイ等の遺伝子発現解析産業の進歩に伴い、今後も市場の拡大が期待される。

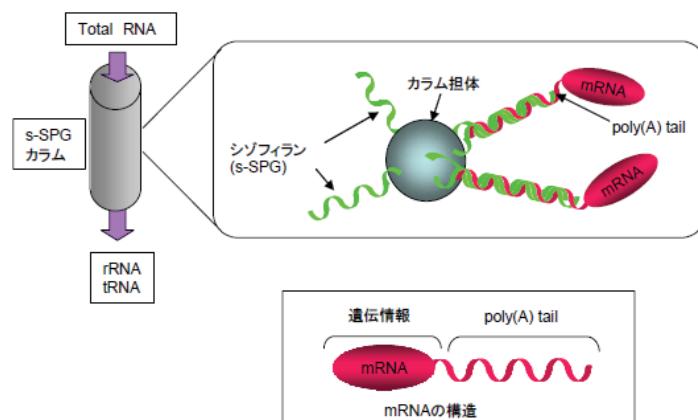


図4.1 s-SPG 修飾カラムによる mRNA 分離スキーム

⁴³⁾ Kimura, T., et al., "Polysaccharide-polynucleotide interaction (XI); novel separation system of RNAs by using schizophyllum-appended column", *Chem. Lett.*, 2002(12), p. 1240-1.

4.2 SPG アフィニティカラムによる核酸の分離^{44), 45)}

4.2.1 s-SPG カラムの調製

シアノボロハイドレート存在下において1本鎖SPG(s-SPG, $M_w 2.2 \times 10^5$)の還元末端にジアミノブタンを反応させた。生成物をAF-Carboxy TOYOPEARL(東ソー)に加え、縮合剤により結合させた(図4.2)。得られたs-SPG担体をカラムに充填しs-SPGカラムとした。

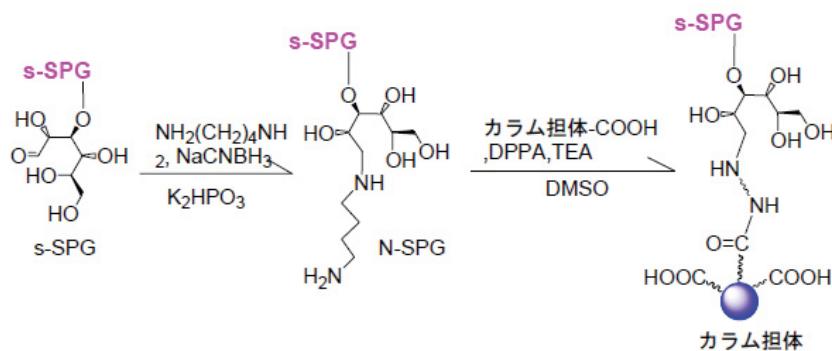


図4.2 s-SPG担体の合成スキーム

4.2.2 s-SPG カラムによる均一塩基組成 RNA の溶出挙動

s-SPG担体をカラムに充填し、RNAの溶出実験を行った。モデル系として均一な塩基組成のpoly(C)、poly(A)、poly(G)を用いた。これらのRNA溶液をカラムに加え、5 °Cで熟成した後、溶出を行った。その結果を図4.3(A)に示す。s-SPGカラムにpoly(C)を加えた場合、5 °C、中性緩衝溶液の条件ではpoly(C)の溶出は認められない。これはpoly(C)が担体表面上のs-SPGと複合体を形成したためと考えられる。この後、溶出条件をSPG-poly(C)複合体が解離する条件(70 °C、無塩水)に変更すると、カラム中に保持

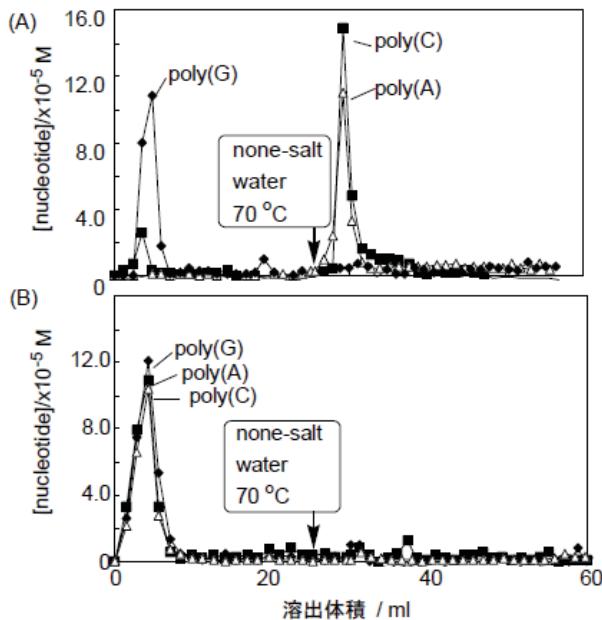


図4.3 s-SPGカラム(A)及びプランクカラム(B)

における合成核酸の溶出挙動。

初期条件:リン酸緩衝液(pH 7.5 50 mM), 5 °C.

されていたpoly(C)は定量的に溶出する。同じくSPGと複合体を形成するpoly(A)に関しても同様の溶出挙動が観察された。これに対して、シズフィランと複合体を形成しないpoly(G)はカラム中に保持されることなく速やかに溶出した。比較としてs-SPGを修

⁴⁴⁾ Kimura, T., et al., “多糖シズフィランを利用した核酸の分離精製”, 高分子加工, 2003(5), p. 201-6.

⁴⁵⁾ Kimura, T., et al., “Separation technique for messenger RNAs by use of schizophyllan/poly(A) tail complexation”, Biomacromolecules, 2005(6), p. 174-9.

飾していないブランクカラムを調製し、核酸の溶出実験を行ったところ、poly(C)、poly(A)、poly(G)のいずれを加えても核酸の保持は全く起こらず速やかに溶出した(図4.3(B))。従って、一連の現象はSPG複合体の形成・解離に基づく効果であるといえる。

以上の結果より、カラム中においてシゾフィランと複合体を形成する核酸(poly(C), poly(A))と形成しない核酸(poly(G))を明確に識別し、異なる溶出挙動を与えることが明らかとなった。これは、カラム担体表面においても選択的なシゾフィラン-核酸複合体形成が成立し、核酸の分離が行えることを意味する。

4.2.3 s-SPGカラムにおけるmRNAの溶出挙動と分離抽出への応用

モデル実験の結果を踏まえて、生物由来のmRNAへの応用を試みた。はじめに酵母由来のmRNAをs-SPGカラムに加えた。この時の溶出挙動を図4.4に示す。これによると、初期溶出条件下においてmRNAは完全に保持されており溶出しない。これに対し、溶出条件を無塩水、70°Cとすると速やかに溶出した。これは図4.3(A)に示したpoly(A)の溶出挙動と同じである。従って、mRNAはpoly(A)tail部分においてs-SPGと複合体を形成することでカラム中に保持されると考えられる。

次に、s-SPGカラムを用いてRNA混合物(total RNA)中からmRNAのみを分離抽出することを試みた。酵母由来のtotal RNAをs-SPGカラムに加え溶出実験を行った(図4.5(A))。その結果、total RNAに含まれるほとんどのRNAはカラム中に保持されるとなく速やかに溶出した。そして後半の溶出画分には微量のRNAが含まれるのみであった。これはtotal RNAの主成分がSPGと相互作用しないことが予想されるリボソーマルRNAであり、一般にmRNAは全体の5%以下しか含まれていないことを考慮すると妥当な結果である。次に、この溶出操作で得られた各フラクションについてノーザンプロット実験を行った(図4.5(B))。ここではプローブとしてDig標識oligo(dT)を用いたので、mRNAが含まれるフラクションを発色により検出出来る。その結果、前半のフラクションにはほとんどmRNAは含まれていないことが明らかになった。そして、後半の画分には強い発色が観察された。これらの結果は、total RNAに含まれるmRNA以外の核酸はカラムから速やかに溶出されるが、poly(A)tailを有するmRNAはシゾフィランと複合体を形成することでカラム中に保持されたことを示すものである。ゲル電気泳動の結果から、得られたmRNAの純度は82-86%と決定された。これは、既存のmRNA分離法であるoligo(dT)法によって得られるmRNAの純度が65~90%であることを考えると、良好な結果であるといえる。

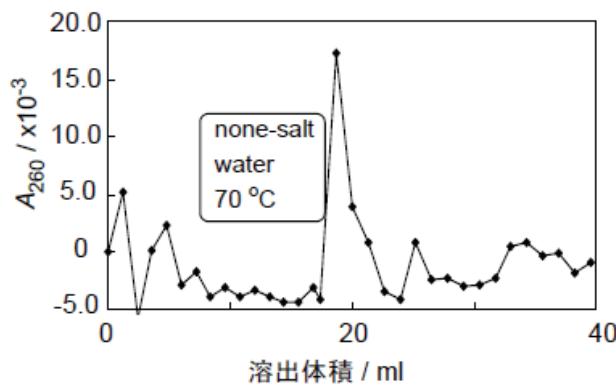


図4.4 s-SPGカラムにおけるmRNAの溶出挙動。
初期条件:リン酸緩衝液(pH 7.5 50 mM), 5 °C.

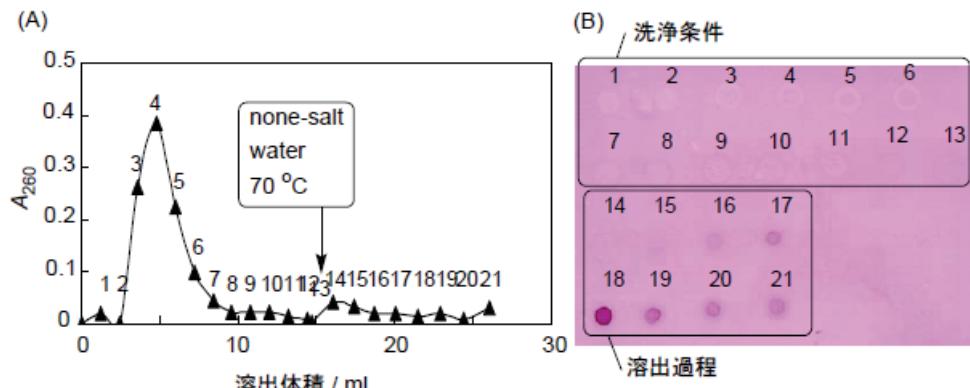


図4.5 s-SPGカラムにおけるtotal RNAの溶出挙動(A),
及び各フラクションのノーザンプロット(B).

4.3 フィルタ一分離法による mRNA の分離抽出⁴⁶⁾

先に述べたように、s-SPG カラムにより mRNA の分離を行うことが出来た。しかしアフィニティーカラム方式では、操作が煩雑で操作時間も長いといった欠点があり、実用化を目指すまでの障害となっている。そこで、これらの欠点を抜本的に改善するために新しい分離システムとしてフィルタ一分離法を考案した(図4.6)。これはs-SPGとtotalRNAを溶液中で混合した後、フィルター濾過することで SPG-mRNA複合体のみを分離する方法である。

この方法では、複合体形成を液相中で行うため熟成時間を大幅に短縮できること、分離をフィルター濾過で行うため、操作が非常に簡便である、といった利点がある。実際に本法を用いて実験を行うと、収率は低いものの mRNA を短時間(約 30 分)で簡単に分離抽出することが出来た。

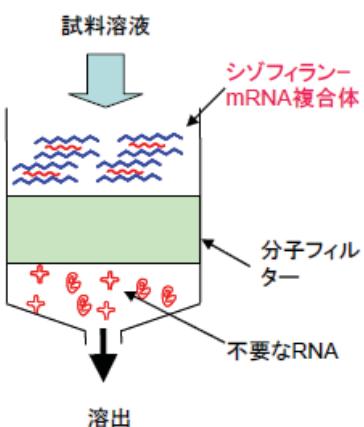


図4.6 フィルタ一分離によるmRNAの分離抽出

4.4 固相抽出カラムによる新規 mRNA 分離法 (C18 法) について

本事業を進める過程において、SPG 法とは異なる mRNA 分離方法を派生的に発見したので併せて報告する。この方法はオクタデシル基修飾シリカを充填した固相抽出カラムを使用する。ここに適切な溶液組成とした totalRNA 溶液を加えると、mRNA のみが選択的に吸着するという原理である(図4.7)。実際の分離結果を図4.8に示す。これによると、totalRNA に含まれるほとんどの rRNA、tRNA は透過液及び洗浄液に含まれる事が分かる(図4.8(A))。これに対し、mRNA は溶出液の画分に定量的に含まれていることが明らかとなった(図4.8(B))。従って、mRNA の定量的かつ選択的な分離抽出が出

⁴⁶⁾ Kimura, T., et al., “多糖シゾフィランを利用したメッセンジャーRNA 分離システムの開発”, 日本化学会生体機能関連化学部会誌 NEWS LETTER, 2004, 18(3), p. 10-3

来ることが示された。この方法は、固相抽出カラムに数回液を透過させるだけで mRNA の分離が可能であるため、簡便かつ短時間で精製 mRNA を得ることが出来る。

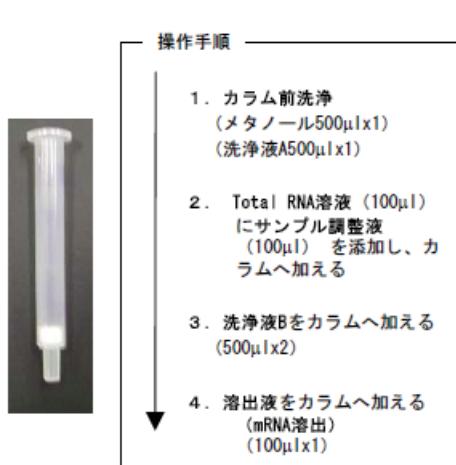


図4.7 mRNA分離用固相抽出カラムと分離手順

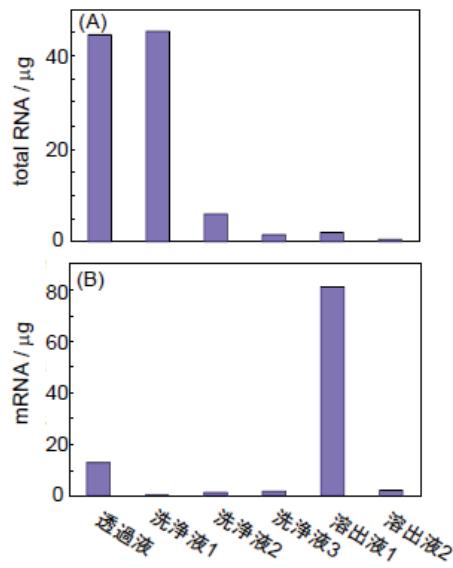


図4.8 各フラクションに含まれる総 RNA 量(A), 及び mRNA 量(B). 総 RNA 量は吸光度, mRNA 量はノーザンプロットより算出

4.5 製品化に向けての取組み

現在実用化されている mRNA 分離キットは全て oligodT 法に基づいている。そこで本研究で得られた技術を利用して、非 oligodT 法による新規 mRNA 分離キットの試作を試みた。はじめに、oligodT 法に対して差別化しやすい特徴を有する C18 法による分離キットの試作を行った。某社と共同で、最適条件の確立などを行い、図4.9に示すキットを作製した。内容は固相抽出カラムと 4 種類の溶液から構成される。このキットは遠心分離器やヒートブロックなど特別な機器を必要とせず簡便に mRNA の分離を行うことが出来る。また、操作時間も非常に短く、1 サンプルを 5 分以内に処理することが出来た。oligodT 法では mRNA と oligodT 間でハイブリダイズさせる時間が必要不可欠であり、操作時間が長くなる要因となる。これに対し、C18 法によるキットは試料及び各溶液を数回カラムに加えるだけなので簡便かつ短時間に分離を行うことが出来る。今後は実際に製品として販売することを目指し研究開発を進める。

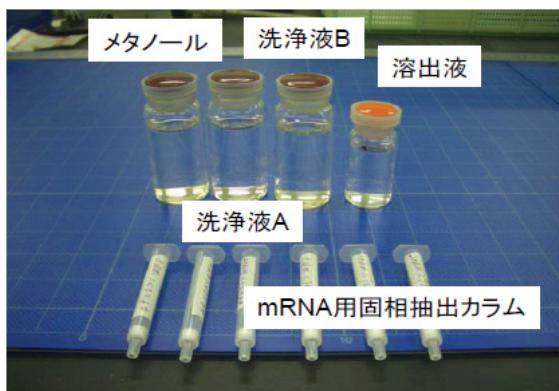


図4.9 C18 法による mRNA 分離キットのイメージ

5 β-1,3-グルカンを1次元ホストとするナノ材料の創製

[九州大学大学院・工学研究院／JST・SORST 研究員 沼田 宗典]

5.1 はじめに

生体高分子は厳密な分子認識に基づき自己組織化し、特異な構造を持った巨大超構造体を創り出す。特に核酸はシーケンスを適切に設計することにより集積のためのプログラム化と得られる超構造の制御が可能であり、これまで様々な分子の1次元配列やナノ材料ファブリケーションのための1次元テンプレートとして利用されてきた経緯がある。生命維持のため厳密な分子認識過程とその結果得られる超構造が人工材料の機能とナノメートル領域で融合することにより、新たな機能を持つ

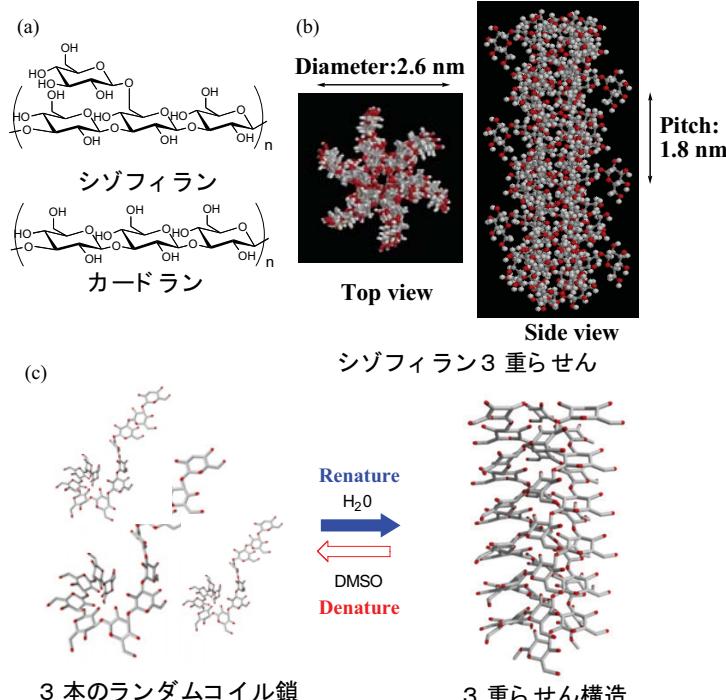
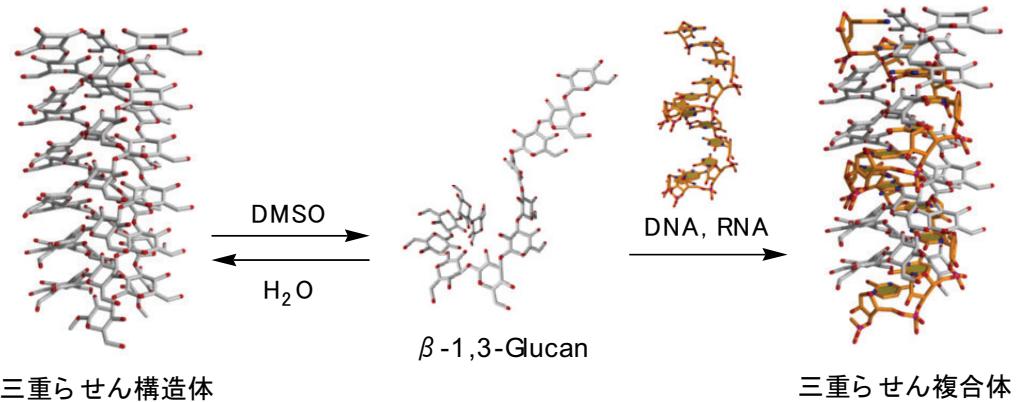


図5.1 (a) シゾフィランおよびカードランの化学構造、(b) 計算により求めたシゾフィラン3重鎖の安定構造、(c) β-1,3-グルカンの溶液特性

ナノマテリアル群の創出が可能となっている。β-1,3-グルカン類はグルコースがβ 1→3 結合で連結したユニークな主鎖構造を持ち、明瞭な構造を持った多糖類である。これらβ-1,3-グルカンは主鎖骨格に由来する強いらせん形成能を持ち、天然では均整のとれた右巻き3重らせん構造として存在する。また、ピッチや直径などの構造パラメータは核酸のそれとほぼ同じであり、まさに多糖を構成単位とした天然の超分子構造体であると言える。β-1,3-グルカン類の溶液特性はさらに興味深い。天然3重らせん構造はDMSOなどの極性有機溶媒中では解離(Denature)し3本のランダムコイル鎖となるが溶媒を水に置換すると再び元の3重らせん構造を自己組織的に再構築(Renature)する(図5.1)。櫻井らはβ-1,3-グルカンのRenature過程にある種の核酸が共存すると多糖2本と核酸1本からなるヘテロ3重らせん構造が形成されるという興味深い現象を見出している(図5.2)⁴⁷⁾。この結果は多糖/β-1,3-グルカンが核酸類似の構造規則性と自己組織性を兼ね備えたユニークな多糖類であることを再認識させるものである。β-1,3-グルカンの自己組織的ならせん形成過程をキープロセスとして利用すれば多糖を基体とした全く新しいナノ材料群の創製が可能となるはずである。

⁴⁷⁾ K. Sakurai and S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 4520 (2000).

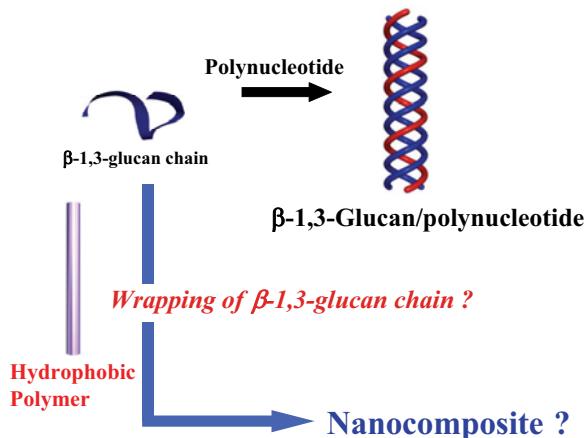
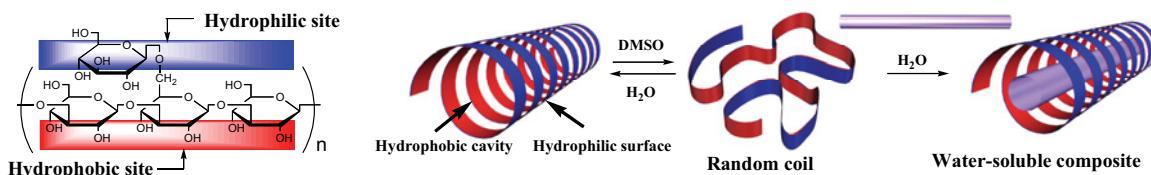
図 5.2 β -1,3-グルカン／核酸複合体の形成

5.2 多糖／核酸複合体から多糖／合成高分子複合体への展開

5.2.1 β -1,3-グルカンの1次元ホスト機能の発見

β -1,3-グルカンが3重らせんを形成する主な駆動力は糖鎖間の疎水性相互作用と考えられている。核酸塩基が疎水性であることを考えると、 β -1,3-グルカン／核酸複合体の形成にも疎水性の相互作用が重要な役割を果たしているものと考えられる。それでは、 β -1,3-グルカンは核酸以外の疎水性ポリマーと相互作用するであろうか？また相互作用した場合、どのような形態の複合体を与えるであろうか？

水中における3重らせんの最安定化構造ではらせん内部に疎水的な1次元ドメインが存在することが示唆されている。このような疎水性1次元ドメインが親水性表面で覆われた両親媒構造はシクロデキストリンのカラム状集積体として捉えることが出来き、疎水性がその内部に取り込まれると期待される。ここで、シクロデキストリンはC₆₀などフラーレン類の優れたホストとして機能することがよく知られている。もし、 β -1,3-グルカンがシクロデキストリンの1次元配列体様の機能を持っていれば、同じ炭素ナノ材料であるカーボンナノチューブ(SWNT)が1次元疎水空間に取り込まれるはずである（図5.4）。

図5.3 β -1,3-グルカン／核酸複合体の形成過程をヒントにした疎水性ポリマーとの複合化図5.4 β -1,3-グルカン(シゾフィラン)の両親媒構造と疎水性空間への取り込みを利用した疎水性ポリマーの包接

5.2.2 β-1,3-グルカン／SWNT 複合体の形成

β-1,3-グルカンが3重鎖を形成した状態ではSWNTを包接できる十分なサイズの空孔は存在しないと考えられる。実際、3本鎖β-1,3-グルカンとSWNTとの間には有効な相互作用は認められなかった。しかし先述したとおり、β-1,3-グルカン鎖が1本鎖から3本らせんに巻き戻る過程に核酸を共存させるとβ-1,3-グルカン／核酸複合体が形成されることが知られている。そこで、この複合体形成法をヒントにβ-1,3-グルカンのRenature過程を利用してSWNTの取り込みを検討する事にした。

予め親水化処理を施したSWNTの分散液にSPGのDMSO溶液を加えそのまま室温で2日間放置した。得られた溶液の遠心分離によりSWNTを含む成分を沈殿として回収し、蒸留水に再分散させた。この操作で過剰に用いたβ-1,3-グルカンは上澄みとして除去されていると考えられる。得られた水溶液をマイカ基盤上にキャストしAFMによる観察を行った。その結果、興味深いことに、β-1,3-グルカンがSWNT表面をらせん状に被覆しSPG特有の周

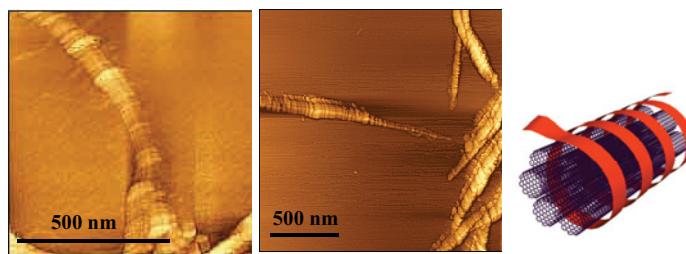


図5.5 SPG/SWNT複合体のAFM像とバンドル化したSWNT表面をラッピングするβ-1,3-グルカン鎖の模式図

期構造がナノチューブ表面で再生されていることが明らかとなっている⁴⁸⁾(図5.5)。このような規則的ならせんパターンはSWNTのみ、あるいはアミロースやデキストランなどの他の多糖類を用いた場合には決して確認されない。β-1,3-グルカンの強いらせん形成能がSWNT表面での規則的なパターン形成を可能にしていると言える。複合体の高さ方向のプロファイルの評価で、複合体の直径は10-20nmであると見積もられた。この結果はSWNT数本から成るバンドルの表面をβ-1,3-グルカンがらせん状に被覆していることを示している。天然β-1,3-グルカンの3重鎖の直径が約2nmであることを考慮すると、β-1,3-グルカンはその主鎖構造を柔軟に変化させながら数倍の直径を持つSWNTバンドルに巻き付いていると考えられる。

SWNTは優れた電気化学的および光化学的機能を有し、ナノテクノロジーの中核を担う機能性材料である。しかし、SWNTは凝集性が極めて強く、單一分散状態での取り扱いが極めて困難であり、実用化に向けた研究はほとんど進展していない。その優れた機能特性を発現させるためにはSWNTを安定に孤立分散させることが必須となる。β-1,3-グルカンがSWNTの表面をラッピングする性質を利用して、SWNTを安定に孤立分散させることができれば、得られる複合体をナノ材料の素材として様々な分野で利用可能となるはずである。

⁴⁸⁾ M. Numata, M. Asai, K. Kaneko, T. Hasegawa, N. Fujita, Y. Kitada, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **33**, 232 (2004).

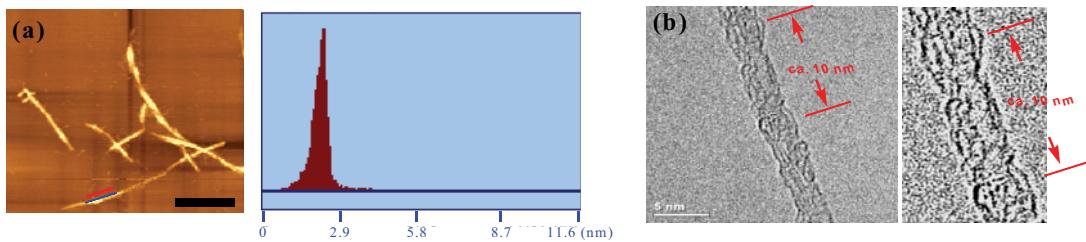
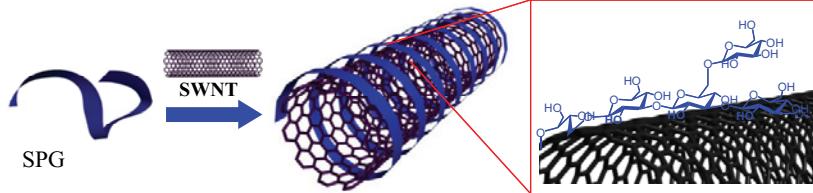


図5.6 (a) SPG/SWNT複合体のAFM像とその高さプロファイル, (b)高分解能TEM像

そこで、 β -1,3-グルカンの疎水性1次元空間内にSWNT 1本を取り込む試みを行った。未精製のHiPco SWNT0.5mgをDMSOに超音波照射を行いながら予備分散させた後、SPGのDMSO溶液を加えさらに超音波分散させた。ここに、蒸留水を加えSPGのRenatureを促進させ、SWNT 1本の分散化を行った。得られた水溶液のUV-visスペクトルを測定したところ、SWNTに由来するピークの先鋭化が確認され、SWNTの孤立分散化が起こっていることが示唆された⁴⁹⁾。また、AFMによってコンポジットの高さプロファイルを評価した結果、直径は2-3nm程であり得られたコンポジットにはSWNT 1本が取り込まれていることが示唆されている(図5.6a)。また、TEMからは実際にSWNT 1本にSPGが右巻きらせんを形成しながら巻き付いている様子が確認された(図5.6b)。

ここで β -1,3-グルカン主鎖の両親媒性を考慮すると β -1,3-グルカンはその疎水部位でSWNTと相互作用していると考えられる(図5.7)。これまで親水性のポリマーがSWNT表面をラッピングし水溶性のコンポジットを与える事は知られていたが、SWNT表面

でのポリマーラッピング様式を明確にした例は存在しない。 β -1,3-グル

図5.7 (a) β -1,3-グルカン/SWNT複合体の形成とそのラッピング様式

媒構造と特異ならせん形成能が明瞭な構造を持つコンポジットの形成を可能としている。コンポジット表面での明瞭なラッピング様式は、後述する様に β -1,3-グルカンへの部位特異的な化学修飾を利用したコンポジット表面の機能化を可能とする。これはコンポジットのナノ材料としての応用研究を考える場合極めて重要である。

以上のSWNTをターゲットとした β -1,3-グルカンの複合体形成能に関する実験結果は、 β -1,3-グルカンの新たな機能を探求する上で重要な知見を与える。つまり、(1) 複合体形成の主な駆動力は疎水性相互作用であると考えられるため、ゲストポリマーの種類に関係なく多様な複合体形成が期待される。さらに(2) β -1,3-グルカンはゲストポリマーのサイズや形状に合わせてその主鎖構造を柔軟に変化させる性質を有しているため、ゲストの形状に寄らない"Induced fit"型の複合体形成が可能となる。これは

⁴⁹⁾ M. Numata, M. Asai, K. Kaneko, A.-H. Bae, T. Hasegawa, K. Sakurai, and S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 5875 (2005).

SWNT のみならず他のポリマーや分子集積体など多様なゲストをターゲットとした複合体形成が可能であることを意味している。まず、β-1,3-グルカンの1次元ホストとしての機能を様々なゲスト高分子をターゲットに検証することとした。以下、その成果を紹介する。

5.3 β-1,3-グルカン／機能性高分子複合体：多糖被覆ナノワイヤーの創製

5.3.1 β-1,3-グルカン／ポリアニリン複合体の形成

まず、SWNT 同様、比較的剛直で疎水性の導電性高分子であるポリアニリンを用いてβ-1,3-グルカンの1次元ホストとしての機能を検証してみるとした。水溶液中では凝集・

不溶化するポリアニリンもβ-1,3-グルカンの1次元空孔に取り込むことが出来れば水溶化できるはずである。さらに、ポリアニリンがβ-1,3-グルカン空孔内で1次元配向化すれば、簡便なナノワイヤーの創製法として興味が持たれる。先に述べた SWNT とのコンポジット形成手順をポリアニリンに適応し、β-1,3-グルカンの Renature 過程でのポリアニリンの取り込みを検討した。その結果、SPG／ポリアニリン複合体は水溶性であり溶液はポリアニリン特有の濃青色を呈することが明らかとなつた⁵⁰⁾。この結果はポリアニリンが SWNT 同様β-1,3-グルカンの1次元空間に取り込まれている事を示唆している。さらに、得られた水溶液の CD スペクトル測定の結果、ポリアニリンに由来する誘起 CD が観察されることがわかった。ポリアニリンのバンドル化に伴い CD 強度は大きくないものの、ポリアニリンが SPG 内に取り込まれていることを強く示唆する結果である。また、水溶液をカーボン支持膜状にキャストし TEM により観察したところ、長さ 200-300nm、直径 10-20nm のファイバー構造を多数確認することができた(図5.8)。コントラストはポリアニリンに由来すると考えられ、その長さは用いた SPG とほぼ一致した。用いたポリアニリンの分子量が 1 万程度で SPG の分子量 (15 万) よりかなり小さい事を考慮すると、図に示す様に数本のポリアニリンがバンドルとして SPG 空孔内に取り込まれ 1 次元に配向していると考えられる。この結果は上記の作業仮説を証明するものであり、β-1,3-グルカンが様々な機能性高分子に対して天然 1 次元ホストとして機能することを示している。

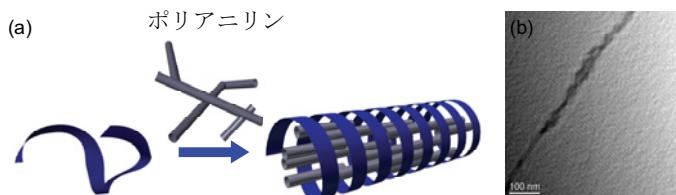


図5.8 (a) シズフィラン／ポリアニリン複合体の模式図
(b) 複合体の TEM 像

5.3.2 β-1,3-グルカン／ポリチオフェン複合体の形成

ポリチオフェンは比較的柔軟な主鎖を持つ導電性高分子であり有効共役長の変化により多彩な色彩変化を引き起こすことが知られている。特にここではポリチオフェン間

⁵⁰⁾ M. Numata, T. Hasegawa, T. Fujisawa, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Org. Lett.*, **6**, 4447 (2004)

のバンドル化を抑制する目的で、水溶性の側鎖を持つたポリチオフェンを設計・合成し、SPG との複合化を検討した。合成したポリチオフェンは単独で高い水溶性を示し、黄色の水溶液を与える事が分かった。これは、ポリチオフェン主鎖が凝集することなく水中でランダムなコンフォメーションをとっていることを示唆している。しかし、図5.9a に示すようにポリチオフェンが SPG の1次元空間に取り込まれた結果、溶液の色が黄色からオレンジへと劇的に変化することが明らかとなつた⁵¹⁾。

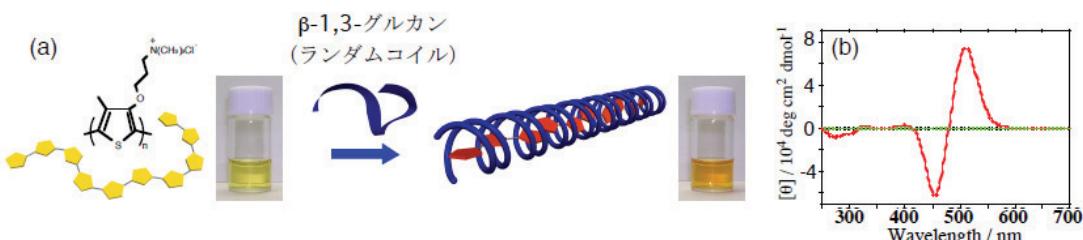


図5.9 (a) シゾフィラン・ポリチオフェン複合体の形成、(b) 複合体の CD スペクトル

これは、 β -1,3-グルカンとの複合化によりポリチオフェンがランダムコイルから直鎖状のコンフォメーションへと変化したことを示している。また、1次元空孔が不斉環境であることを反映してポリチオフェンの吸収領域に強い誘起 CD も観察された（図5.9b）。興味深い事にポリチオフェンと SPG との化学量論比を Job Plot から評価したところ、2本の SPG 鎖が1本のポリチオフェンを被覆していることが示唆された。

CD スペクトルの結果と合わせて考えると、 β -1,3-グルカンが創り出す不斉環境を反映して1本の孤立分散したポリチオフェンが SPG 空孔内でねじれたコンフォメーションをとっていると考えられる。本系ではポリチオフェン1本が β -1,3-グルカン空孔内で孤立分散化されるため水中でも高分子の凝集が抑制され、発光の消光は全く観察されない。特異な不斉環境下にある導電性高分子からの蛍光発光は円偏光発光素子などへの応用が期待される。以上の実験結果は β -1,3-グルカン固有のコンフォメーション変化をポリチオフェンのコンフォメーション変化として読み出せる可能性があることを示唆する。核酸やタンパク質と異なり発色団を持たない糖鎖のコンフォメーション変化を分光測定で検出するのは極めて困難である。そこで、ポリチオフェンをプローブと

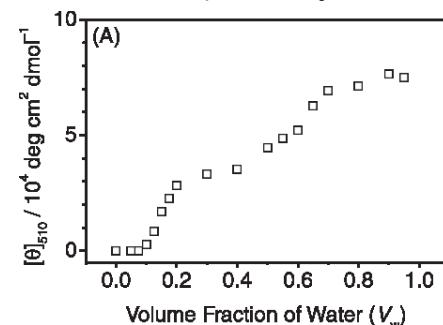


図5.10 水/DMSO 混合溶媒中における SPG/ポリチオフェン複合体の CD 強度変化

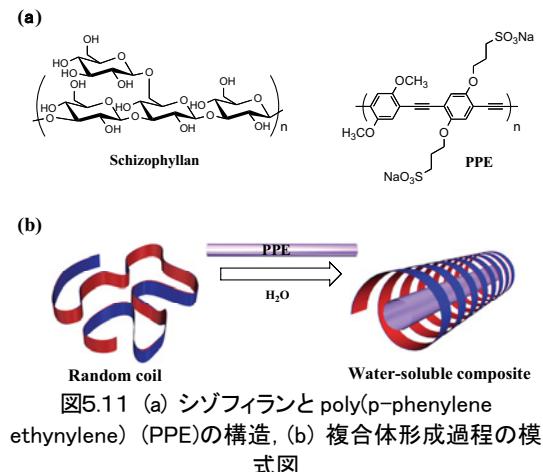


図5.11 (a) シゾフィランと poly(p-phenylene ethynylene) (PPE)の構造、(b) 複合体形成過程の模式図

⁵¹⁾ C. Li, M. Numata, A.-H. Bae, K. Sakurai, and S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 4548 (2005)

して用いβ-1,3-グルカンのRenature過程で起こる糖鎖のコンフォメーション変化をモニターすることにした。溶媒中の水の含有量に対し複合体形成に伴うCD強度の変化をプロットすると水の体積分率が15%-20%の間で、らせん構造への巻き戻りが起きていることが分かった。その結果は既に報告されているORDを用いた実験結果ともよく一致する(図5.10)⁵²⁾。SPG/高分子複合体形成過程が多糖コンフォメーションの読み出しやさらには糖鎖機能の解明に応用できる可能性が秘められている。

5.3.3 β-1,3-グルカン／フェニレンエチニレン複合体の形成

Poly(p-phenylene ethynylene) (PPE) は発光性導電性高分子の中でも特に高い蛍光量子収率を示す。その発光特性からこれまでにPPEを用いたセンサーが多く報告されてきた。しかし、高分子主鎖間での強いπ-π相互作用により、水中では凝集し発光特性を失う事が問題となっていた。もし、PPEをβ-1,3-グルカンの1次元空孔内で孤立分散できれば、強い発光特性を保持したままβ-1,3-グルカン固有のらせん構造がPPEに誘起されると考えられる(図5.11)。円偏向発光素子やセンシング素子としての応用研究が期待される。

実際にPPEのDMSO溶液とSPGのDMSO溶液を混合した後、水を加える事によりPPEをほぼ孤立分散した状態で1次元空孔内に取り込める事が明らかとなっている。得られた水溶液の蛍光スペクトルおよびCDスペクトル測定の結果、PPEが強い発光特性を保持したままSPGのらせん空孔に取り込まれている事が示唆されている(図5.12a)⁵³⁾。

参照実験としてβ-1,3-グルカン以外の多糖類を用いた実験も実施した。

しかし、図5.12bに示すようにβ-1,3-グルカンを用いた場合のみPPEから誘起CDが確認できることが明らかとなっている。このことはβ1→3結合に由来する強いらせん形成能がPPEとの安定な複合体形成に重要な役割を果たしている事を示唆している。

5.3.4 β-1,3-グルカン／ポリシラン複合体の形成

⁵²⁾ C. Li, M. Numata, T. Hasegawa, K. Sakurai, S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **34**, 1345 (2005)

⁵³⁾ M. Numata, T. Fujisawa, C. Li, S. Haraguchi, M. Ikeda, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Supramol. Chem.*, in press.

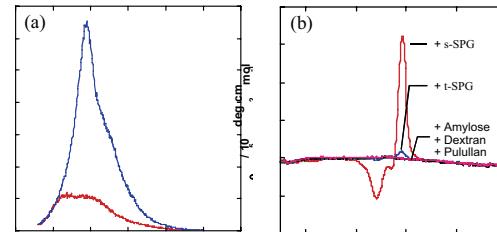


図5.12 (a) SPG/PPE複合体(青線)とPPE(赤線)の蛍光スペクトル:[PPE]= 1.5×10^{-4} M, excited at 400 nm
(b) SPG/PPE複合体のCDスペクトルとその他の多糖を用いた参照実験:[PPE]= 1.5×10^{-4} M, 1.0 cm cell.

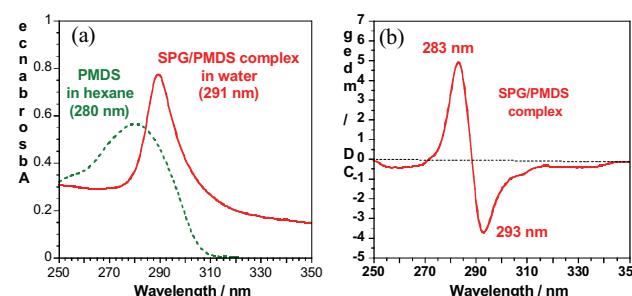


図5.13 (a) SPG/PMDS複合体溶液のUV-vis,
(b) CDスペクトル:1.0 cm cell, rt.

ポリシランはシラン原子が一次元状に連なった高分子であり、高効率励起子発光や高導電性等の優れた性質を有し、情報技術分野において極めて重要なナノ材料として注目されている。しかし、その優れた性質はポリシランのコンフォメーションに大きく依存し、共役長の伸びたトランス型構造をとる時に最もその機能が発揮されることが知られている。そこで、ポリシランを SPG 内に包接し、特異なコンフォメーションを誘起し固定化できないか検討することにした。 π 共役高分子のみならずポリシランの様な σ 共役高分子への特異ならせん形成についても興味が持たれる。

様々な条件検討の結果、有機

溶媒と水の界面を用いることで非常に効率よく SPG とポリシラン(PMDS)を複合化させることができることを見出した⁵⁴⁾。UV-vis スペクトル測定の結果、PMDS は SPG に包接されることにより共役長の伸びたトランス型の構造へ誘起されていることがわかった。このような相互作用は β -1,3-グルカン以外の多糖では全く確認されず、PMDS は SPG が形成する疎水空間に取り込まれているということが示された。また CD スペクトル測定の結果、PMDS の吸収領域に誘起 CD シグナルが確認された(図5.13)。このことは PMDS が SPG のらせん内部にて SPG に誘起されたらせん構造を形成していることを示している。また溶液の蛍光スペクトル測定の結果、複合体中の PMDS は SPG によるインシュレート効果により高い量子収率を維持していることも確認されている(図5.14a)。次に、形成した SPG/PMDSa 複合体のモルフオロジーを AFM にて観察した。その結果、SPG のモルフオロジーを反映したファイバー状のコンポジットを多数確認することができた(図5.14b)。

以上のように β -1,3-グルカンが様々な機能性高分子をゲストとし水溶性の 1 次元コンポジット群を当てることが示された。内包されるゲスト高分子には β -1,3-グルカン固有のらせん情報が誘起されそれぞれ機能性高分子の機能と多糖由来の構造性がナノメートルレベルで融合されている。これらの結果を踏まえ、それ自体では 1 次元構造を取らないゲストを β -1,3-グルカンの疎水性空間に取り込み 1 次元組織化することを試みた。様々なナノ材料が自己組織化によって形成される超構造体は配列様式や次元性によって多様な機能発現が可能となる。特に、1 次元構造体はナノワイヤーやメモリーといったナノデバイスの開発に不可欠な構造要素でありその簡便な調製法の確立が望まれている。

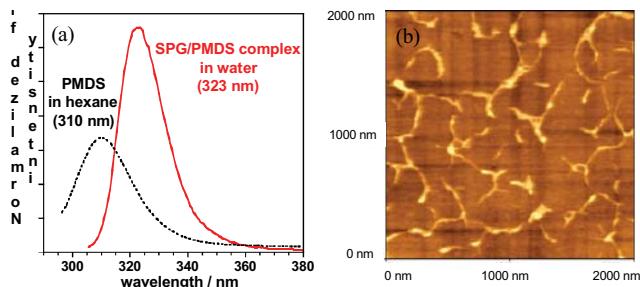


図5.14 (a) SPG/PMDS 複合体溶液の蛍光スペクトル、
(b) SPG/PMDS 複合体の AFM 画像

⁵⁴⁾ S. Haraguchi, T. Hasegawa, M. Numata, M. Fujiki, K. Uezu, K. Sakurai, S. Shinkai, *Org. Lett.*, 7, 5605 (2005)

5.3.5 β -1,3-グルカン／機能性色素複合体の形成

分子内に強い双極子を持つ有機分子は自己組織化することにより1次元状の超分子構造体を形成することがよく知られている。導電性高分子が β -1,3-グルカンの1次元空間に取り込まれ安定な複合体を形成する結果を踏まえ、適切に設計された色素分子をSPGの疎水空間内で1次元集積することを試みた。強い双極子を持つ色素分子は様々な分子パッキング様式を取り事が可能であり、それに伴い多彩な色彩の変化を生み出す事が知られている。SPGが色素分子の1次テンプレートとしてだけではなく、分子パッキング様式をナノレベルで制御するマニピュレーターとして機能すれば多様な1次元超分子構造を自在に創り分ける事が可能となる。今回、水素結合による分子間相互作用が可能なピリジル基とカルボキシル基を末端に持つアゾ色素を設計・合成した。この色素分子は強い双極子モーメントに加え、head-to-tail型の分子間水素結合により1次元に自己組織化すると期待される。

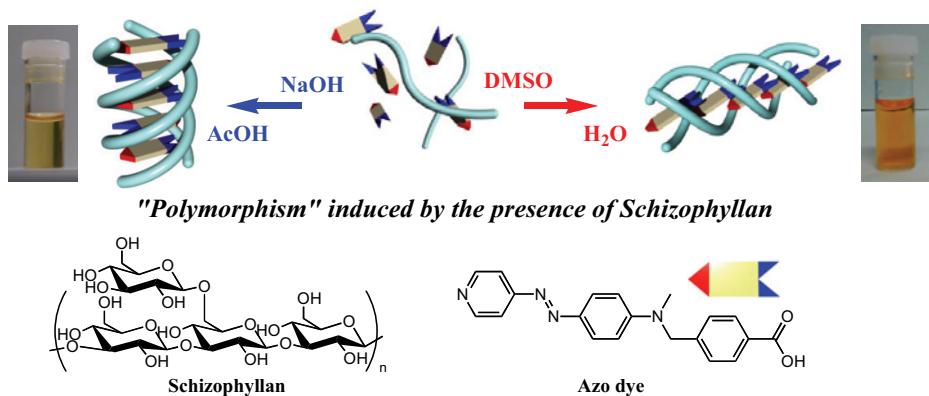
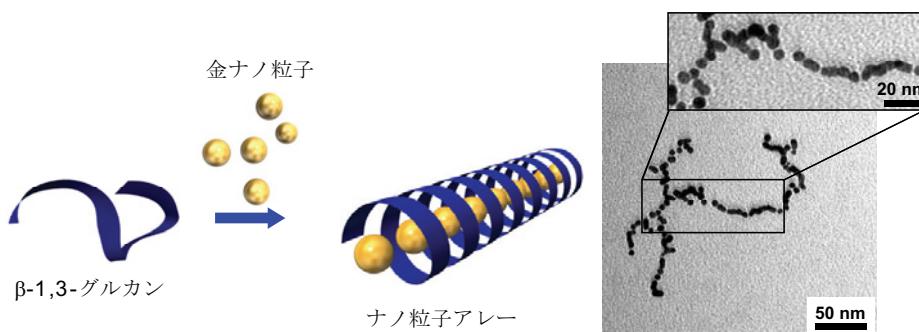


図5.15 SPG の異なる Renature 過程におけるラッピングを利用した色素分子の配列制御

SPG は DMSO 溶液あるいはアルカリ(NaOH)溶液からそれぞれ水の添加、酸による中和で Renature させることができある。今回合成したアゾ色素が分子間水素結合部位を有していることを考慮すると、SPG 共存下で進行するアゾ色素の組織化は2つの Renature 過程で大きく異なると考えられる。まず、アゾ色素と SPG の DMSO 溶液を調製し、ここに蒸留水を少しづつ滴下していった。色素のみでは水の添加に伴いオレンジ色の沈殿を生じる。しかし、SPG 共存下で調製した溶液は均一であり沈殿の生成は認められなかった。UV-vis スペクトルおよび CD スペクトル測定の結果、色素分子の吸収はわずかに長波長シフトを示し、その吸収領域には強い誘起 CD が確認された。これらの結果は色素分子が J-会合体を形成しながら SPG の疎水空間に取り込まれている事を示唆している。一方。色素と SPG のアルカリ溶液(pH=13)を酢酸にて中和したところ淡黄色の均一溶液を与えた。溶液の色調変化より DMSO を用いた場合と異なるパッキング様式で色素分子が組織化していることが示唆された(図5.15)。

図5.16 β -1,3-グルカンを1次元ホストとした金ナノ粒子の組織化

実際、UV-vis スペクトル測定の結果、色素の極大吸収波長は短波長シフトを示し、H-会合していると考えられる。この場合も短波長シフトした色素の吸収領域に強い誘起 CD が確認され、H-会合体が SPG の疎水空間に取り込まれて 1 次元に組織化されていることが示されている⁵⁵⁾。

この他にもポルフィリンを SPG の Renature 過程で相互作用させると用いたポルフィリン分子(5,10,15,20-tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrin)がスタッキングしながら SPG 内で 1 次元組織体を形成することが明らかとなっている。得られたコンポジットからは強い誘起 CD が観察され 1 次元組織体が SPG のらせん環境下でねじれていることが示唆されている。天然多糖の構造規則性を利用して形成されるポリフィリン分子の 1 次元配列体は光合成モデルとしてその特異な光化学的機能に興味が持たれる⁵⁶⁾。

以上の様に、 β -1,3-グルカンは機能性分子の 1 次元組織構造体をそのらせん構造内に取り込むことができる。先に述べた高分子ゲストとは異なり一般に分子間相互作用で集積した超分子ポリマーは物理的および化学的な環境変化に容易にその構造と機能を消失されることになる。本手法は機能性分子の 1 次元成長と同時に得られた超分子ポリマーの安定化を達成する手法として注目される。

5.3.6 β -1,3-グルカンを 1 次元ホストとした無機ナノ粒子の 1 次元組織化

量子ドットや金属ナノ粒子の 1 次元配列体はメモリーや整流素子として興味が持たれている。近年、これら無機ナノ粒子を簡便に 1 次元組織化する手法の開発は国内外を問わず活発に行われている。我々は β -1,3-グルカンの 1 次元ホストとしての機能を無機ナノ粒子の組織化に利用することを考えた。その結果、例えば、直径 5 ナノメートルの金ナノ粒子水溶液に SPG の DMSO 溶液を加えると Renature 過程で金ナノ粒子が疎水空間に取り込まれ、1 次元アレーが作成できることを明らかとしている⁵⁷⁾ (図5.16)。 β -1,3-グルカンが本来有する自己組織的ならせん形成能を引き出すことで、一般に困難とされるナノ粒子の 1 次元組織化が容易に行えることが明らかとなっている。さらに、

⁵⁵⁾ M. Numata, Shingo Tamesue, Tomohisa Fujisawa, Shuichi Haraguchi, Teruaki Hasegawa, Ah-Hyun Bae, Chun Li, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai, *Org. Lett.*, **8**, 5533 (2006).

⁵⁶⁾ T. Hasegawa, T. Fujisawa, M. Numata, C. Li, A.-H. Bae, S. Haraguchi, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **34**, 1118 (2005).

⁵⁷⁾ A.-H. Bae, M. Numata, T. Hasegawa, C. Li, K. Kaneko, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 2030 (2005)

最近このナノ粒子にレーザー照射と還元処理を施すと粒子間の融合が起こり、金ナノワイヤーに変換できることを見出した。粒子径のそろったナノ粒子アレーを用いることで均一な直径を持つナノワイヤーの作成にも成功している⁵⁸⁾。

カルボランはフラーレン類似の形状やサイズを持つケージ化合物であり、これまでホストゲスト化学において格好のターゲットゲスト分子となってきた。例えば、カリックスアレーン、CTV、シクロデキストリンなどがカルボランと安定なホスト-ゲスト複合体を形成することが見出されている。さらに、人体に無害な熱中性子線をカルボランに照射すると α 線が放出されることが明となっている。近年この性質が注目されつつあり、実際にカルボランをガン組織に集積させ治療（中性子捕捉治療）に利用しようとする試みが盛んに行われるようになってきている。

ここでもしカルボランが β -1,3-グルカンの疎水空間に取り込まれれば、カルボランが疎水性空間内で1次元に組織化され、容易に水溶化できると期待される（図5.17）。実際にシゾフィランの Renature 過程にカルボランを共存させたところ、疎水性のカルボランがシゾフィランと複合化することにより容易に水溶化できることが明らかとなつた⁵⁹⁾。AFM, TEM による複合体の形態観察の結果、カルボランがシゾフィランの疎水性空間内で1次元状に組織化され、連続的なアレー構造を形成していることが明らかくなっている。これまでカルボランを骨格とした超分子構造体が多数報告されているが、ほとんどの場合カルボランへの化学修飾が必須プロセスであった。しかし本システムでは、 β -1,3-グルカン特有のホスト機能を活用することにより、超分子化学的手法によりカルボランの組織化が容易に達成できることになる。

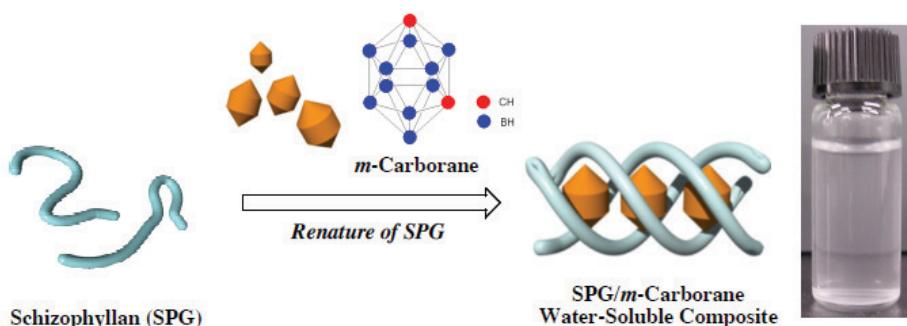


図5.17 SPG/カルボラン複合体の形成

⁵⁸⁾ A.-H. Bae, M. Numata, S. Yamada, S. Shinkai, *New. J. Chem.*, in press.

⁵⁹⁾ M. Numata, S. Tamesue, T. Nagasaki, K. Sakura, S. Shinkai, *Chem. Lett.*, accepted.

得られたコンポジットは高い水溶性と同時に天然多糖に由来する生体適合性が付与されているため、新規バイオ材料としての応用研究が待望される。細胞指向性部位を導入したシゾフィランとカルボランからなる複合体が新規な熱中性子捕捉療法剤として実際に利用できると期待される。

5.3.7 1次元ホストから1次元反応場へ

β -1,3-グルカンが形成する1次元疎水空間は低分子化合物の組織化にも有効であることが示された。特に、分子間相互作用部位を適切に導入した分子は1次元空孔内で規則的な構造体を構築できる。そこで、もし反応性の低分子化合物を1次元空間内で予備組織化し、その後重合反応を起こす事ができれば特異ならせん状空間内で重合反応が進行しSPGの高次構造を反映した高分子が生成すると期待される（図5.18）。

まず、ジフェニルブタジインの光重合によるポリジアセチレンの合成について検討を行う事にした。
SPG 1次元空間内での予備組織化過程

を促進させる為に分子間水素結合部位としてアミド基を有するジフェニルブタジイン誘導体を設計・合成した（図5.19a）。

SPG とジフェニルブタジンを DMSO 中でよく混合し、そこへ蒸留水を加え SPG の Renature を行った。得られた溶液は均一であり、ジフェニルブタジインが SPG に内包されていることが示唆された。実際、図5.14b に示す様に水溶液の CD スペクトルを測定したところ、モノマーの吸収帶(300-400 nm)に誘起 CD を確認する事が出来た。プルランやデキストランの場合は CD シグナルは確認されず、ジフェニルブタジインの予備組織化は起こっていないと考えられる。

SPG とジフェニルブタジインの混合溶液を脱気した後、高圧水銀ランプにより光を照射しジアセチレンの光重合を行ったところ、16 時間後溶液が無色から淡青色に変化していることが目視により確認された。光反応後の溶液の UV-vis スペクトル測定結果、

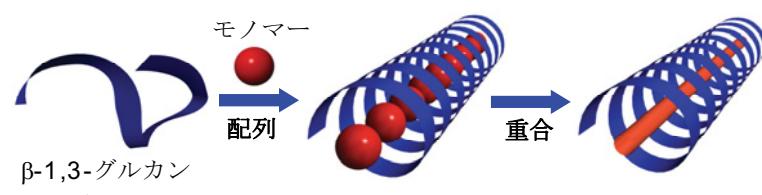


図5.18(a) β -1,3-グルカンを1次元重合場として利用した重合反応の概念図

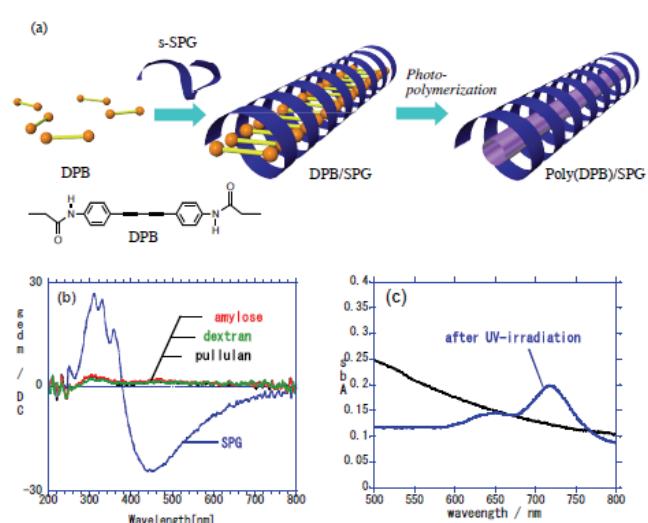


図5.19 (a) SPG の1次元空孔内での光重合を目的として設計・合成したジフェニルブタジイン誘導体、(b)SPGとの混合後の CD スペクトル(c)光照射後の UV-vis スペクトル

ポリジアセチレン由来と考えられる 720nm に極大を持つ吸収ピークが確認できた⁶⁰⁾。さらに、この溶液のラマンスペクトル測定を行ったところポリジアセチレンの C=C 結合に由来するピークが確認でき、ポリジアセチレンが SPG 内で生成していることが強く示唆された。参考実験としてジフェニルブタジインのみの溶液に同様の条件で光照射を行ったところ、重合反応の進行は全く認められなかった。この結果はジフェニルブタジインの SPG 空孔内の予備組織化が重合反応の促進に不可欠であることを示している。

次に、得られた SPG/ポリジアセチレン複合体の TEM 観察を行ったところ、SPG の構造を反映した 1 次元ファイバー構造が確認された。このファイバーの EDX 分析の結果、ファイバーの周辺から SPG に由来する酸素原子が検出され、ポリジアセチレンが SPG により被覆されている事が示唆された。この結果は重合反応が SPG の疎水空間内で特異的に進行していることを意味している。これは、得られたコンポジットが高い水溶性を保持している事実とよく一致する。このように、SPG がモノマー分子の予備組織化だけでなく光重合の重合場として機能していることが示された。

以上の知見を基にアルコキシシリランの重縮合反応（ゾルゲル反応）を SPG の 1 次元空孔内で行い、シリカナノファイバーの創製を試みる事にした。トリメトキシプロピルシリランをモノマーとし、SPG の 1 次元空孔に取り込んだ後、塩基触媒を添加することによりゾルゲル反応を開始した。反応の進行に伴う沈殿の生成は認められず、SPG の 1 次元空間内で特異的にゾルゲル反応が進行していることが示唆された。図5.20 に示す TEM による観察の結果から、直径が

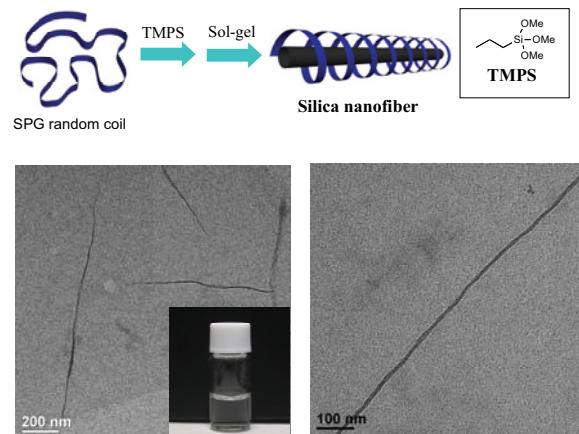


図5.20(a) SPG を 1 次元重合場として利用した重合反応の概念図、(b)1 次元重合場で生成したシリカナノファイバーの TEM 像

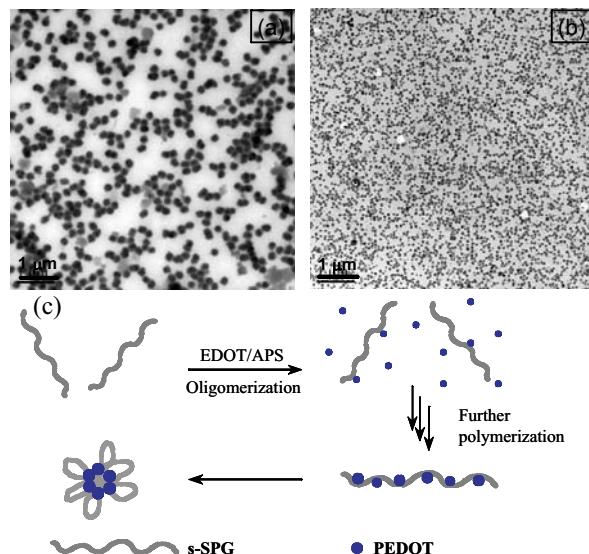


図5.21 SPG 存在下における EDOT の酸化重合
([EDOT]=9.4mM, [APS]=94mM:
(a) 3.0mg/mL SPG 存在下での重合
(b) 3.0mg/mL SPG 存在下での重合。

⁶⁰⁾ T. Hasegawa, S. Haraguchi, M. Numata, T. Fujisawa, C. Li, K. Kaneko, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **34**, 40 (2005).

均一なシリカナノファイバーの生成が明らかとなっている⁶¹⁾。

以上の実験結果は重合反応に先だって SPG 1 次元空孔内でモノマー分子が予備組織化される過程が必要であることを示している。もしモノマーが親水性である場合、その重合反応は SPG 内では選択的に進行せずファイバー構造が得られないことになる。例えば、3,4-ethylenedioxythiophene (EDOT) は酸化重合により poly(3,4-ethylene dioxythiophene) を与えるが EDOT 自体が親水性であるため、SPG の 1 次元空孔内で選択的に重合反応を行う事が困難であると考えられる。実際に SPG 存在下、ammonium persulfate (APS) による EDOT の酸化重合を行ったところ、ファイバー構造ではなく球状の会合体が生成することが明らかとなっている（図5.21a および b）。これは EDOT の重合がまずバルク溶液中で進行しオリゴマーに成長した後、水溶性の低下に伴い SPG の疎水空孔に取り込まれた結果であると考えられる。得られた PEDOT の強い疎水性のためファイバー構造を維持できずに球状会合体を形成したと考えられる⁶²⁾。

以上のようにモノマーを適切に設計することにより SPG の 1 次元空孔で選択的に重合反応を行う事が可能となった。1 次元ホストとしての機能だけでなくモノマーの反応性を制御できる重合場として働くことが示された。

5.3.8 β -1,3-グルカンのラッピング特性を利用した超分子ブロックポリマーの創製

親水性ポリマーと疎水性ポリマーが共有結合にて連結した両親媒性ポリマーは水中で自己組織的に集合し、巨大なミセルやベシクルなどの超構造体を形成することがよく知られている。これら集合体の構造は、一本の高分子鎖における親水ドメインと疎水ドメインの相対的な大きさ、位置、数によって劇的に変化する。このため、多用な機能と構造を持った集合体の創製には一本の高分子鎖内でこれらのファクターを厳密に制御することが求められ、簡便かつ有効な方法の確立が待望されている。

天然多糖である SPG は様々な疎水性ポリマーをラッピングすることにより水溶性コンポジットを与えることを述べてきた。もし、このラッピング過

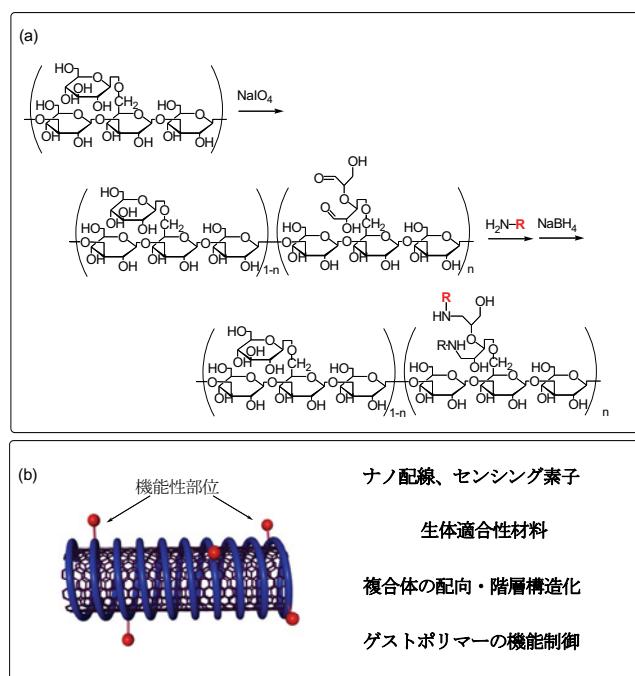


図5.23 (a)過ヨウ素酸酸化を利用したシゾフィランへの選択的化学修飾法、(b)化学修飾 β -1,3-グルカンを用いたゲストポリマーへの超分子化学的機能付与

⁶¹⁾ M. Numata, C. Li, A.-H. Bae, K. Kaneko, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **2005**, 4655

⁶²⁾ C. Li, M. Numata, T. Hasegawa, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **34**, 1354 (2005)

程で疎水性ポリマーに巻き付く SPG の領域を制御することができれば、ラッピング過程を利用した両親媒性ポリマーの創製が可能になるはずである。このような、自己組織的なラッピングを利用したブロックポリマーの創製は高分子合成の視点からみても興味深いはずである。今回、SPG の疎水性ポリマーへのラッピングをキープロセスとした超分子化学的なブロックポリマーの創製について検討を行った。

まず、疎水性ポリマーを有機溶媒に溶解し、水中でエマルジョン化した。ここに SPG の DMSO 溶液を加え、有機溶媒／水の界面にて Renature させ、疎水性ポリマーへのラッピングを行った。このような界面でのラッピング過程を利用することにより超分子ポリマーの形成が可能となると期待される(図5.22)。得られた水溶液の DLS 測定の結果、直径 100-200nm の構造体の形成が示唆された。さらに、TEM による観察の結果では内部に疎水性ドメインを持つ水溶性巨大ミセルの形成が明らかとなっている。このミセルの表面は SPG で被覆されているため、水溶性と高い生体適合性を兼ね備えている。さらに、SPG に様々な官能基を修飾する事によりミセル表面の機能化が超分子的に達成できるだけでなく、ミセル内部に疎水性分子を内包することも可能である。今後は多糖を基体とした機能性ナノ材料としてだけではなく、DDS における薬物キャリヤーとしての応用研究が期待される。

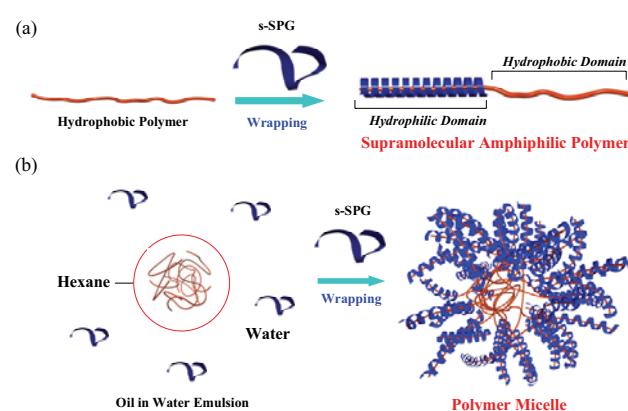


図5.22 (a)疎水性ポリマーへの部分的ラッピングを利用した超分子ブロックポリマーの創製 (b) O/W エマルジョン表面でのラッピングを利用した巨大ミセル構造の形成

5.3.9 SPG およびカードランへの化学修飾

ゲスト高分子が β -1,3-グルカンの1次元空孔内に取り込まれた場合、 β -1,3-グルカンは主鎖グルコースの疎水面（ α 面側）でゲストポリマーと相互作用すると考えられる。一方、親水性の β -1,3-グルカン表面（SPGでは側鎖グルコース、カードランでは6位水酸基）はゲストポリマーとの相互作用には関与しないことになる。もし、SPGの側鎖あるいはカードランの6位水酸基に選択的に官能基を導入することができれば、ラッピング過程を利用したゲスト高分子への超分子的機能付与が可能となるはずである。

SPGには側鎖グルコースにのみ1,2(cis)-ジオール部位が存在する。この1,2-ジオールは過ヨウ素酸により酸化的に開裂しアルデヒドを生成する。この部位特異的な酸化反応と続く還元的なアミノ化反応を利用する事により、これまでにSPGの側鎖選択的に様々な機能性かんのうきの導入を行ってきた（図5.23a）。さらに、合成した種々の化学修飾SPGが様々な機能性ポリマーの1次元ホストとして機能することを明らかとしている^{31), 63)}。

例えばマンノースをグルコース側鎖に導入したSPGを用いSWNTあるいはポリアニリンとの複合体形成を行った。マンノースはコンカナバリンAなどのレクチンに対して高い親和性を持つ糖質である。よって、得られたSWNTおよびポリアニリンコンポジットの表面は高いレクチン

親和性を持つはずである。実際に表面プラズモン共鳴法あるいは蛍光ラベルしたレクチンを用いた共焦点レーザー顕微鏡観察により、取り込んだゲストポリマーがそれぞれコンカナバリンAに対して高い親和性を持っている事が示されている（図5.24）。これらの結果はSPGおよびカードランが1次元ホストとして機能した場合、グルコース側鎖あるいは6位水酸基は得られるコンポジットの表面に存在する事を示している。 β -1,3-グルカン特有のらせん構造がゲスト高分子の表面で再現されていることを示唆していると考えられる。今後、様々な機能性ナノマテリアルの創製を目的としてコンポジットの機能化を行う場合、こうした化学修飾 β -1,3-グルカンを用いたゲスト高分子への超分子化学的な機能付与が極めて重要な手法となることは言うまでもない。

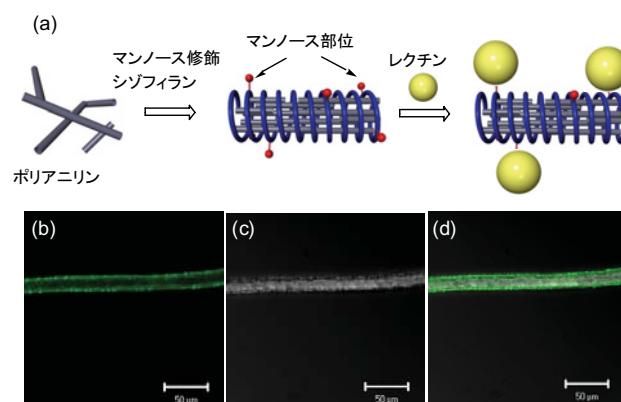


図5.24 (a) マンノース修飾シズフィランを1次元ホストとして利用したポリアニリンへのレクチン認識能の付与、(b)–(d) FITC修飾コンカナバリンAを用いた複合体の共焦点レーザー顕微鏡像 (b):蛍光像、(c):透過構造 (d):(b),(c)の重ね合わせ像

⁶³⁾ T. Hasegawa, M. Numata, T. Fujisawa, K. Sakurai, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, 2004, 2150.

5.3.10 クリックケミストリーによるβ-1,3-グルカン鎖の合成とそのホスト機能の探索

β-1,3-グルカンをナノ材料の素材と見たとき、安価であるカードランは SPG より魅力的な素材である。しかし、SPG と比較してカードランは水溶性に乏しく 1 次元ホストとして利用する際の問題点となっていた。我々はカードランの 6 位の 1 級水酸基に対し、トリフェニルホスフィン／四臭化炭素を作用させることで 6 位水酸基のみを選択的にプロモ化することに成功した。この反応は部位特異的かつ定量的に進行し、すべての 6 位水酸基を機能変換することができる。例えば、アジ化ナトリウムとの反応により 6 位水酸基を全てアジド基に変換することに成功している。

一方、アジド化合物と末端アルキンを有する一連の化合物群とのカップリング反応が近年注目を集めている。この反応は穏和な条件で選択的に進行することが知られている。そこで、様々な機能性基をアルキン末端に導入した分子ライブラリーを構築し、アジド化カードランとのカップリング反応を実施すれば多様な機能を持った半人工カードラン化合物の合成が可能となるはずである（図5.25）。例えばこれまでにポルフィリンやフェロセン、ピレンと言った機能性分子種を選択的かつ定量的に導入したカードランの合成に成功している^{64(18) 65(19)}。また、導入する官能基を適切に設計することによりカードランに水溶性と機能を同時に付与することができるようになる。ここでもしこうした半合成カードランが 1 次元ホストとして機能すれば、コンポジット表面では導入した官能基がらせん状に規則的に配置される。実際に様々な官能基を導入した半人工カードラン鎖が SWNT などの 1 次元ホストとして機能し、コンポジット表面に特異的な分子認識場を形成することが明らかとなりつつある。コンポジット表面での特異的な分子認識はコンポジットのセンサーとしての機能を探求するうえで極めて重要になる。また、コンポジット表面での分子認識過程を通してコンポジット間の相互作用を自在にコントロールし、コンポジットの階層化が達成されると期待される。

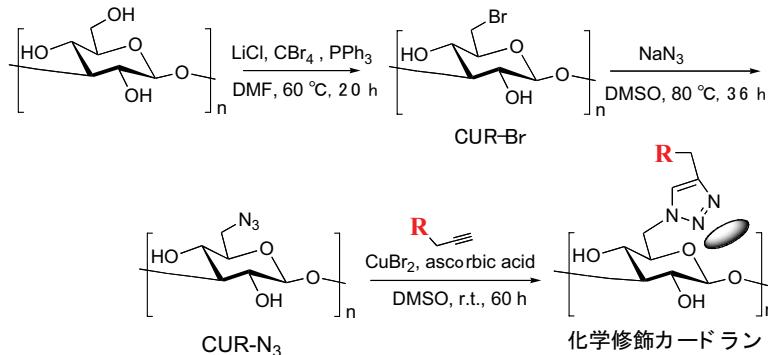


図5.25 クリックケミストリーを利用したカードラン6位水酸基への選択的かつ定量的な官能基導入

⁶⁴ T. Hasegawa, M. Umeda, M. Numata, C. Li, A.-H. Bae, T. Fujisawa, S. Haraguchi, K. Sakurai, S. Shinkai, *Carbohydrate Res.*, **34**, 35 (2006).

⁶⁵ T. Hasegawa, M. Umeda, M. Numata, T. Fujisawa, S. Haraguchi, K. Sakurai, S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **35**, 82 (2006).

5.3.11 β -1, 3-グルカン／機能性高分子複合体のバイオ・ナノ材料としての応用研究

β -1, 3-グルカンが様々なナノ材料を包接し1次元のナノコンポジットを与える事を既に述べた。また、機能性官能基を部位特異的に化学修飾した β -1, 3-グルカンもSWNT や導電性高分子の1次元ホストとして機能することが既に明らかとなっている。こうした化学修飾 β -1, 3-グルカンを用いた複合体形成はゲスト高分子への超分子化学的な機能付与と見ることが出来る。特にクリックケミストリーを利用して合成されるカーボランを用いた場合、6位水酸基が全て官能基で変換されているため、特異な相互作用部位をコンポジット表面に構築することが可能である。コンポジット表面に規則的に分子認識部位を配置することにより、コンポジット間の特異的な相互作用を通してコンポジットを2次元あるいは3次元に規則的に配向させることが可能となるはずである(図5.26)。コンポジット間での厳密な分子認識過程を利用してすることで、集積する高分子の種類や数、距離を厳密に制御しながら、高分子鎖を2次元あるいは3次元に規則的に配置できるシステムの確立を目指し現在も検討を行っている。これまでに形成された1次元コンポジット群を新たなビルディングブロックとして捉える事によりナノ材料を指向した応用研究が可能となる。これまで、核酸やペプチドをナノ材料の素材として利用した研究例は数多く見られるが、多糖をナノ材料の創製に積極的に活用した例はほとんど無い。今後、本系が多糖を基体とした機能性マテリアルの創製において新たなブレイクスルーとなることを期待する。

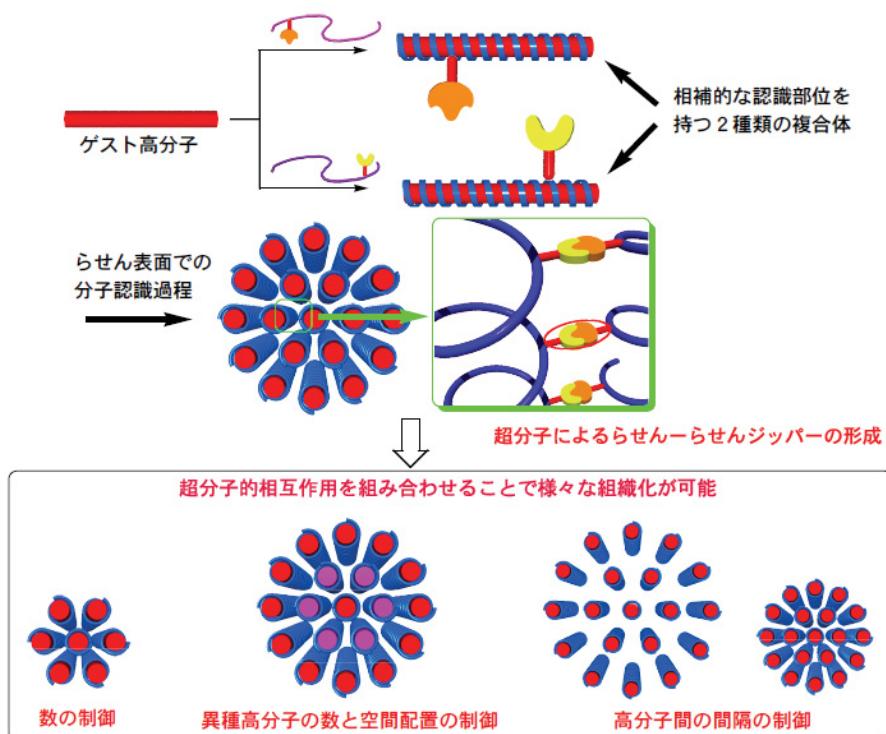


図5.26 らせん表面での超分子ジッパー形成を利用した機能性高分子の組織構造形成(概念図)

「1次元分子認識システムを応用した 多糖系遺伝子マニピュレーターの創製」

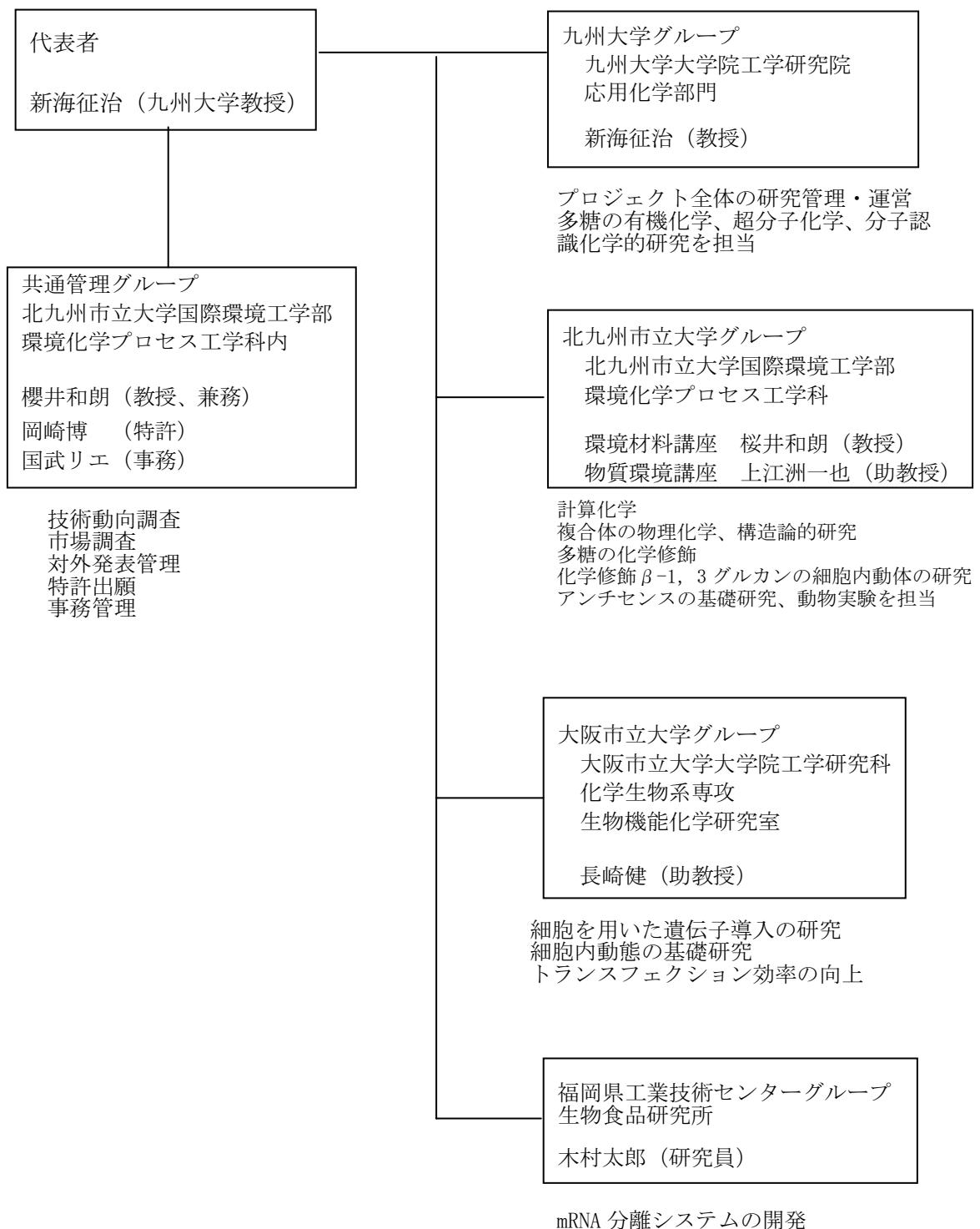
資料編

(目次)

1 研究実施体制	63
(1) 体制	63
(2) メンバー表	64
2 研究期間中の主な活動	68
(1) ワークショップ・シンポジウム等	68
(2) チーム検討会	68
(3) 招聘した研究者等	70
3 主な研究成果	71
(1) 論文発表	71
(2) 口頭発表	82
(3) 特許出願	92
(4) 受賞等	97

1 研究実施体制

(1) 体制



注釈) 上記の正規メンバー以外に三井製糖株式会社と共同研究を結んでおり、試薬多糖の提供、分析・動物実験等の支援を受けている。

(2) メンバー表

研究グループ名：九州大学グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期	備考
新海 征治	九州大学大学院 工学研究院	教授	研究管理・運営	平成 14 年 4 月	
竹内 正之	九州大学大学院 工学研究院	助手	多糖の化学修飾	平成 14 年 4 月	
沼田 宗典	九州大学大学院 工学研究院	SORST 研究員	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 14 年 4 月	SORST 研究員
武部 智子	九州大学大学院 工学研究院	年俸制研究 補助員	研究管理事務	平成 14 年 4 月	
山田 照美	九州大学大学院 工学研究院	時給制研究 補助員	多糖の化学修飾	平成 14 年 4 月	
金江 紅月	九州大学大学院 工学研究院	時給制研究 補助員	多糖の化学修飾	平成 14 年 4 月	
長谷川輝明	九州大学大学院 工学研究院	特任助手	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 15 年 4 月	平成 18 年 3 月 離脱
松本 貴博	九州大学大学院 工学研究院	大学院 前期 2 年	多糖の化学修飾	平成 14 年 4 月	平成 16 年 3 月 離脱
梅田真理子	九州大学大学院 工学研究院	大学院 前期 2 年	多糖の化学修飾	平成 14 年 4 月	平成 16 年 3 月 離脱
藤澤 友久	九州大学大学院 工学研究院	大学院 前期 2 年	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 15 年 4 月	
李 春	九州大学大学院 工学研究院	九州大学 博士研究員	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 16 年 4 月	平成 17 年 8 月 離脱
原口 修一	九州大学大学院 工学研究院	大学院 前期 2 年	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 16 年 4 月	
裴 威賢	九州大学大学院 工学研究院	大学院 後期 3 年	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 16 年 9 月	平成 17 年 9 月 離脱
為末 真吾	九州大学大学院 工学研究院	大学院 前期 1 年	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 17 年 4 月	
池田 将	九州大学大学院 工学研究院	特任助手	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 18 年 4 月	
杉川 幸太	九州大学工学部	学部 4 年	多糖の化学修飾, 機能性材料の創製	平成 18 年 4 月	

研究グループ名：北九州市立大学グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期	備考
櫻井 和朗	北九州市立大学 国際環境工学部	教授	物理化学、 北九大 Gr のまとめ	平成 14 年 4 月	
上江洲一也	北九州市立大学 国際環境工学部	助教授	計算化学	平成 14 年 4 月	
磯田 隆聰	北九州市立大学 国際環境工学部	講師	マイクロリアクター	平成 14 年 4 月	平成 16 年 3 月 離脱
甲元 一也	甲南大学 先端 生命工学研究所	講師	多糖の化学修飾	平成 14 年 4 月	平成 16 年 4 月 離脱
水 雅美	北九州市立大学 国際環境工学部	派遣研究員 (台糖から)	アンチセンス	平成 14 年 4 月	平成 15 年 11 月 離脱
穴田 貴久	東北大学大学院 歯学研究科	SORST 研究 員	タンパク質との相互 作用	平成 15 年 4 月	平成 17 年 3 月 離脱
三好賢太郎	北九州市立大学 国際環境工学部	年俸制研究 補助員	計算化学	平成 14 年 4 月	平成 17 年 2 月 離脱
田中 素子	北九州市立大学 国際環境工学部	時給制研究 補助員	分光測定	平成 14 年 4 月	平成 16 年 3 月 離脱
狩長 亮二	北九州市立大学 国際環境工学部 2 年	大学院前期	アンチセンス	平成 15 年 4 月	平成 17 年 3 月 離脱
稻田 達	北九州市立大学 国際環境工学部 2 年	大学院前期	カーボンナノチュ ーブ	平成 16 年 4 月	
三成 寿作	北九州市立大学 国際環境工学部 2 年	大学院前期	アンチジーン	平成 16 年 4 月	
濱田 衣美	北九州市立大学 国際環境工学部 2 年	大学院前期	DNA アーキテクチャ ー	平成 16 年 4 月	
岡田 尚子	北九州市立大学 国際環境工学部 学部 4 年		CpG	平成 16 年 4 月	平成 17 年 3 月 離脱
徳久 憲司	北九州市立大学 国際環境工学部 2 年	大学院前期	DNA の超分子化学	平成 16 年 8 月	平成 18 年 3 月 離脱
嶋田 直彦	北九州市立大学 国際環境工学部	SORST 研究 員	SPG へのタンパク	平成 17 年 4 月	SORST 研究員
武田 陽一	北九州市立大学 国際環境工学部	SORST 研究 員	オリゴ核酸内包ナノ ゲルの作成	平成 17 年 4 月	H18 年 4 月より NEDO 研究員
大河平紀司	北九州市立大学 国際環境工学部	年俸制研究 補助員	計算化学	平成 17 年 4 月	
福田 直也	北九州市立大学 国際環境工学部 2 年	大学院前期	DNA インターカレー ター	平成 17 年 4 月	
楠木 翔太	北九州市立大学 国際環境工学部 2 年	大学院前期	SPG	平成 17 年 4 月	
春日 美香	北九州市立大学 国際環境工学部 1 年	大学院前期	オリゴ核酸内包ナノ ゲルの作成, CPG	平成 17 年 4 月	
櫻木 美菜	北九州市立大学 国際環境工学部 1 年	大学院前期	CPG	平成 18 年 4 月	

研究グループ名：大阪市立大学グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期	備考
長崎 健	大阪市立大学 大学院工学研究科	助教授	遺伝子導入剤としての評価、Grのまとめ	平成 14 年 4 月	
林 麻紀	大阪市立大学 大学院工学研究科	時給制研究員	活性評価	平成 14 年 8 月	平成 15 年 5 月 離脱
北條 雅也	大阪市立大学 大学院工学研究科	補助員	活性評価	平成 14 年 11 月	平成 15 年 3 月 離脱
佐藤 琢	大阪市立大学 大学院工学研究科	SORST 研究員	機構解明	平成 15 年 8 月	SORST 研究員
宇野 篤	大阪市立大学 大学院工学研究科	時給制研究員	活性評価	平成 15 年 4 月	平成 17 年 12 月 離脱
後藤 大道	大阪市立大学 大学院工学研究科	補助員	活性評価	平成 16 年 5 月	平成 17 年 3 月 離脱
川津 猛	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 前期 2 年	活性評価	平成 15 年 4 月	平成 17 年 3 月 離脱
志賀 敏記	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 前期 2 年	活性評価	平成 15 年 4 月	平成 17 年 3 月 離脱
武島 隆行	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 前期 1 年	活性評価	平成 16 年 4 月	平成 17 年 3 月 離脱
柿本 真司	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 後期 1 年	活性評価	平成 16 年 4 月	
甚田 知美	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 前期 2 年	活性評価	平成 16 年 4 月	平成 18 年 3 月 離脱
狩野 弘志	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 前期 2 年	活性評価	平成 16 年 4 月	
住友 健太	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 前期 2 年	活性評価	平成 16 年 4 月	
盛山 哲嗣	大阪市立大学 大学院工学研究科	学部 4 年生	活性評価	平成 16 年 4 月	平成 17 年 3 月 離脱
中谷 美香	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 前期 1 年	活性評価	平成 17 年 4 月	
吉田 雅俊	大阪市立大学 大学院工学研究科	大学院 前期 1 年	活性評価	平成 17 年 4 月	
浅岡 美希	大阪市立大学 大学院工学研究科	学部 4 年生	活性評価	平成 18 年 4 月	
村岡 悠	大阪市立大学 大学院工学研究科	学部 4 年生	活性評価	平成 18 年 4 月	

研究グループ名：生物食品研究所（生食研）グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期	備考
木村 太郎	福岡県工業技術センター	研究員	mRNA分離システム開発, Grのまとめ	平成 14 年 4 月	
別府 亜希子	福岡県工業技術センター	時給制研究補助員	mRNA分離システム開発	平成 16 年 8 月	平成 17 年 3 月 離脱
稻永 亜紀子	福岡県工業技術センター	時給制研究補助員	mRNA分離システム開発	平成 16 年 4 月	平成 16 年 7 月 離脱
金子 光代	福岡県工業技術センター	時給制研究補助員	mRNA分離システム開発	平成 17 年 4 月	
黒岩 由美子	福岡県工業技術センター	時給制研究補助員	mRNA分離システム開発	平成 18 年 4 月	

研究グループ名：共通管理グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期	備考
櫻井 和朗	北九州市立大学 国際環境工学部	教授		平成 14 年 4 月	北九大Grリーダーと兼務
岡崎 博	北九州市立大学 国際環境工学部	時給制研究 補助員	特許, 外部発表管理	平成 14 年 6 月	
国武 リエ	北九州市立大学 国際環境工学部	年俸制研究 補助員	研究管理事務, 分光測定、データ解析	平成 14 年 4 月	

2 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成14年 7月10～11日	SORST 第1回拡大会議	北九州市立大学 国際環境工学部	25名	SORST 課題の進捗状況報告
平成15年 2月3日	SORST 平成14年度成果発表会	大阪市立大学文化 交流センター(大阪)	約25名	SORST 課題の平成14年度成果報告
平成16年 1月27日	中間成果発表会	福岡県工業技術セン ター生物食品研究所	約60名	中間時点での成果公開と各方面からご批判を受ける
平成16年 5月25～26日	SORST ジョイントシン ポジウム(1)	コクヨホール (東京 品川)	約280名	新海チーム成果報告
平成17年 2月1日	平成16年度新海チ ーム成果発表会	大阪市立大学文化 交流センター(大阪)	約60名	新海チーム成果報告
平成17年 11月28～29日	SORST ジョイントシン ポジウム(4)	千里ライフサイエンス センター(大阪)	約260名	新海チーム成果報告
平成18年 10月20日	平成18年度新海チ ーム成果発表会	大阪市立大学文化 交流センター(大阪)	約40名	新海チーム成果報告
平成19年 1月30～31日	SORST ジョイントシン ポジウム(6)	コクヨホール (東京 品川)	約370名	新海チーム成果報告

(2) チーム検討会

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成14年 4月22日	第1回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約15名	研究内容の討議・方向付け
平成14年 5月13日	第2回 SORST 検討会	北九州市立大学 国際環境工学部	約15名	研究内容の討議・方向付け
平成14年 5月27日	第3回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約15名	研究内容の討議・方向付け
平成14年 6月10日	第4回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約15名	研究内容の討議・方向付け
平成14年 6月24日	第5回 SORST 検討会	北九州市立大学 国際環境工学部	約15名	研究内容の討議・方向付け
平成14年 7月11日	第6回 SORST 検討会	北九州市立大学 国際環境工学部	約15名	研究内容の討議・方向付け
平成14年 8月26日	第7回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約15名	研究内容の討議・方向付け
平成14年 9月20日	第8回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約15名	研究内容の討議・方向付け
平成14年 10月21日	第9回 SORST 検討会	北九州市立大学 国際環境工学部	約15名	研究内容の討議・方向付け

平成 14 年 12 月 9 日	第 10 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 15 名	研究内容の討議・方向付け
平成 15 年 2 月 4 日	第 11 回 SORST 検討会	大阪市立大学大学 院工学研究院	約 15 名	研究内容の討議・方向付け
平成 15 年 5 月 6 日	第 1 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 15 年 6 月 26 日	第 2 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 15 年 7 月 28 日	第 3 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 15 年 9 月 29 日	第 4 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 15 年 11 月 14 日	第 5 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 16 年 1 月 28 日	第 6 回 SORST 検討会	福岡県工業技術セン ター 生物食品研究所	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 16 年 5 月 20 日	第 1 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 16 年 7 月 20 日	第 2 回 SORST 検討会	北九州市立大学 国際環境工学部	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 16 年 9 月 27 日	第 3 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 16 年 11 月 29 日	第 4 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 17 年 1 月 31 日	第 5 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 17 年 4 月 22 日	第 1 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 17 年 6 月 9 日	第 2 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 17 年 8 月 5 日	第 3 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 17 年 10 月 17 日	第 4 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 17 年 12 月 9 日	第 5 回 SORST 検討会	JST イノベーション プラザ福岡（福岡）	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 18 年 2 月 10 日	第 6 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 18 年 4 月 14 日	第 1 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 18 年 6 月 22 日	第 2 回 SORST 検討会	JST イノベーション プラザ福岡（福岡）	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 18 年 9 月 4 日	第 3 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 18 年 10 月 21 日	第 4 回 SORST 検討会	有馬保養所 瑞宝園（神戸）	約 20 名	研究内容の討議・方向付け
平成 19 年 2 月 9 日	第 5 回 SORST 検討会	九州大学大学院 工学研究院	約 20 名	研究内容の討議・方向付け

(3) 招聘した研究者等

氏名(所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間
Tony D. James (イギリス, Bath 大学、教授)	研究討議及び情報交換	大阪市	平成 17 年 2 月
Richard G. Weiss (アメリカ, Georgetown 大学、教授)	研究討議及び情報交換	北九州市	平成 18 年 3 月
Michael John Gait (イギリス, Medical Research Council、グループ長)	「膜透過ペプチド国際ミニシンポジウム」で講演、および研究討議	京都市	平成 18 年 11 月 4~12 日
Bernard Roland Lebleu (ベルギー, モンペリエ第二大学、教授)	「膜透過ペプチド国際ミニシンポジウム」で講演、および研究討議	京都市	平成 18 年 11 月 8~13 日
Sung-Kee Chung (韓国, ポフアン科学技術大学、教授)	「膜透過ペプチド国際ミニシンポジウム」で講演、および研究討議	京都市	平成 18 年 11 月 8~12 日
Ernest Giralt (スペイン, バルセロナ大学、教授)	「膜透過ペプチド国際ミニシンポジウム」で講演、および研究討議	京都市	平成 18 年 11 月 5~15 日

3 主な研究成果

(1) 論文発表

合計 115 件（国内 35 件、海外 80 件）。

但し、ICORP で投稿した論文 8 件（国内 2 件、国外 6 件）を含む。

各件毎の内容を、サブテーマ別の番号、著者”論文名”/掲載誌、巻数、頁（年）の順に以下記載した。

[1] 多糖・核酸複合体の創製と遺伝子デリバリーへの応用(北九大 Gr)、69 件

- 1 Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Molecular recognition of Adenine, Cytosine, and Uracil in a Single-Stranded RNA by a Natural Polysaccharide: Schizophyllane”;
J. Am. Chem. Soc., **122**, 4520-4521(2000)
- 2 Kazuo Sakurai, Masami Mizu and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes. 2. Complementary polynucleotide mimic behavior of a Natural Polysaccharide: Schizophylan in the Macromolecular Complex with a Single-Stranded RNA: Poly(C)”;
Biomacromolecules, **2**, 641-650(2001)
- 3 Taro Kimura, Kazuya Koumoto, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes (III): A novel Interaction between the β -1,3-Glucan Family and the Single-Stranded RNA Poly(C)”;
Chem. Lett., **2000**, 1242-1243
- 4 Kazuya Koumoto, Taro Kimura, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes (IV): Anti-hydrolysis effect of the schizophylan/poly(C) complex and the complex dissociation induced by amines”;
Bioorg. Chem., **29**, 178-185(2001)
- 5 Masami Mizu, Taro Kimura, Kazuya Koumoto, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Thermally induced conformational transition of polydeoxyadenosine in the complex with schizophylan and the base-length dependence of its stability”;
Chem. Commun., **2001**, 429-430
- 6 Kazuo Sakurai, Ritsuko Iguchi, Kazuya Koumoto, Taro Kimura, Yoshio Hisaeda, Masami Mizu and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes Part 8. Cation Induced Complex Formation between Polyuridylic Acid and Schizophylan”;
Biopolymers, **65**, 1-9(2002)
- 7 Kazuya Koumoto, Taro Kimura, Masami Mizu, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Chemical modification of schizophylan by introduction of a cationic charge into the side chain which enhances the thermal stability of schizophylan/poly(C) complexes”;
Chem. Commun., **2001**, 1962-1963
- 8 Kazuya Koumoto, Taro Kimura, Hideki Kobayashi, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Chemical Modification of Curdlan to Induce an Interaction with Poly(C)”;
Chem. Lett., **2001**, 908-909

- 9 櫻井和朗, 新海征治;
“多糖・核酸からなる3重らせんの発見とその応用”;
高分子, **51**, 603-606(2002)
- 10 Kazuya Koumoto, Kazuo Sakurai, Seiji Shinkai and Toyoki Kunitake;
“Chemical modification of curdlan: Characteristic complexation with polynucleotides by control of the molecular weight”;
Am. Chem. Soc. Polym. Prep., **43**, 721-72(2002).
- 11 Kazuo Sakurai, Kazuya Koumoto, Masami Mizu and Seiji Shinkai;
“Novel DNA-Polysaccharide Triple Helix and its Application to a Gene Carrier”;
Am. Chem. Soc. Polym. Prep., **43**, 691-692(2002)
- 12 Kazuya Koumoto, Taro Kimura, Masami Mizu, Toyoki Kunitake, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes Part 12: Enhanced affinity for various polynucleotide chains by site-specific chemical modification of schizophyllan”;
J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 2477-2484 (2002)
- 13 Kazuo Sakurai, Ritsuko Iguchi, Masami Mizu, Kazuya Koumoto and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes Part 7. Hydrogen-ion and Salt Concentration Dependence of Complexation between Schizophyllan and Single-Stranded Homo RNAs”;
Bioorg. Chem., **31**, 216-226(2003)
- 14 Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Taro Kimura, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes Part 17: Solvent effects on conformational transition of polydeoxyadenylic acid in the complex with schizophyllan”;
Polymer. J., **35**, 714-720 (2003)
- 15 甲元一也, 水雅美、櫻井和朗、新海征治;
“アンチセンス治療に向けた多糖系遺伝子キャリアー”;
月刊 BIOINDUSTRY, **20** (10), 30-37 (2003)
- 16 Takahisa Anada, Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Ryouji Karinaga, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Microanalysis of Nucleic Acids Using the Limulus G Test”;
Analytical Sciences, rapid communication, **19**, 1567-1568(2003)
- 17 A. H. Bae, S. W. Lee, Masato Ikeda, Masato Sano, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai;
“Rod-like architecture and hericity of the poly(C)/schizophyllan complex as observed by AFM and SEM”;
Carbohydr. Res., **339**, 251-258(2003)
- 18 Kazuya Koumoto, Mariko Umeda, Munenori Numata, Takahiro Matsumoto, Kazuo Sakurai, Toyoki Kunitake and Seiji Shinkai;
“Low Mw Sulfated Curdlan with improved Water-solubility forms macromolecular Complex with polycytidylic acid”;
Carbohydr. Res., **339**, 161-167(2004)
- 19 Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Taro Kimura, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Protection of polynucleotides against nuclease-mediated hydrolysis by complexation with schizophyllan”;
Biomaterials, **25**, 3109-3116(2004)
- 20 Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Takahisa Anada, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Antisense oligonucleotides bound in the polysaccharide complex and the enhanced antisense effect due to the low hydrolysis”;
Biomaterials, **25**, 3117-3123(2004)

- 21 Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Kazuo Sakurai, Toyoki Kunitake and Seiji Shinkai; “Release of Single-stranded DNA Bound in the Schizophyllan Complex toward the Complementary Strand”; *Chemistry & Biodiversity*, **1**, 520-529 (2004)
- 22 Kazuo Sakurai, Kazuya Koumoto and Seiji Shinkai; “A Novel Triple Helix Consisting of One Polynucleotide and Two Polysaccharide Chains”; *Macromolecular Nano-Structured Material*, Ed. by Ian W Hamley, 127-158(2003)
- 23 Ryouji Karinaga, Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Takahisa Anada, Seiji Shinkai, Taro Kimura and Kazuo Sakurai; “First observation of complexation between mRNA and the natural polysaccharide schizophyllan by the fluorescence polarization”; *Chemistry & Biodiversity*, **1**, 634-639 (2004)
- 24 Kazuya Koumoto, Hideki Kobayashi, Masami Mizu, Taro Kimura, Kazuo Sakurai, Toyoki Kunitake and Seiji Shinkai; “Molecular Weight Control of Curdlan (β -1,3-Glucan Polysaccharide) Provides Unique Polynucleotide Binding Properties”; *Polymer J.*, **36**, 380-385(2004)
- 25 櫻井和朗; “多糖・核酸からなる3重螺旋の発見とその応用”; *生命化学研究レター*, No.15, 4 (2004)
- 26 Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Takahisa Anada, Ryouji Karinaga, Taro Kimura, Takeshi Nagasaki, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai; “Enhanced Antisense Effect of Polysaccharide-polynucleotide Complexes by Preventing the Antisense Oligonucleotide from Binding to Proteins in the Culture Medium”; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **77**, 1101-1110 (2004)
- 27 Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Takahisa Anada, Takahiro Matsumoto, Munenori Numata, Seiji Shinkai, Takeshi Nagasaki and Kazuo Sakurai; “A Polysaccharide Carrier for Immunostimulatory CpG DNAs to Enhance Cytokine Secretion”; *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 8372-8373(2004)
- 28 Kentaro Miyoshi, Kazuya Uezu, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Proposal of a Hydrogen Bonding Form to Maintain the Curdlan Triple Helix”; *Chemistry & Biodiversity*, **1**, 916-924 (2004)
- 29 Kazuya Koumoto, Ryouji Karinaga, Masami Mizu, Takahisa Anada, Kazuo Sakurai, Toyoki Kunitake and Seiji Shinkai; “Removal of the side-chain glucose groups from schizophyllan improves the thermal stability of the polycytidylic acid complexes under the physiological conditions.”; *Biopolymers*, **75**, 403-411(2004)
- 30 Takahisa Anada, Hideshi Matsunaga, Ryouji Karinaga, Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Koji Nakano, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai; “Proposal of New Modification Technique for Linear Double-Stranded DNAs Using the Polysaccharide Schizophyllan”; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 5655-5659(2004)
- 31 犬長亮二、甲元一也、櫻井和朗、新海征治; “多糖・核酸複合体を用いた機能性高分子コンジュゲート—核酸医薬デリバリーへの挑戦—”; *高分子加工*, **53**, 561-568(2004)

- 32 Ryouji Karinaga, Kazuya Koumoto, Jusaku Minari, Masami Mizu, Takahisa Anada and Kazuo Sakurai;
“Competition between Polysaccharide/Polynucleotide Complexation vs. Polynucleotide Hybridization; Salt Concentration Dependence of the Reaction Direction”;
J. of Surface Science and e-J. Surf. Sci. Nanotech., **3**, 38-45(2005)
- 33 Do-Hyeon Yang, Ah-Hyun Bae, Kazuya Koumoto, Seung-Woo Lee, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“In situ monitoring of polysaccharide-polynucleotide interaction using a schizophyllan-immobilized QCM device”;
Sensors and Actuators B: Chemical, **105/2** 490-494(2005)
- 34 Takahisa Anada, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“A New Polynucleotide-Polysaccharide Complex and its Application to Functional Oligonucleotide Delivery”;
Trends in Glycoscience and Glycotechnology, **17**(94), 49-57(2005)
- 35 Takahisa Anada, Ryouji Karinaga, Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Takahiro Matsumoto, Munenori Numata, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai;
“Transferrin-appended beta-(1-3)-D-glucan schizophyllan for antisense oligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake”;
e-J. of Surface Science and Nanotechnology, **3**, 195-202(2005)
- 36 Kentaro Miyoshi, Kazuya Uezu, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes. Part 32. Structural Analysis of the Curdlan/Poly(cytidylic acid) Complex with Semiempirical Molecular Orbital Calculations”;
Biomacromolecules, **6**, 1540-1546(2005)
- 37 Ryouji Karinaga, Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Takahisa Anada, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai;
“PEG-appended β -(1→3)-d-glucan schizophyllan to deliver antisense-oligonucleotides with avoiding lysosomal degradation”;
Biomaterials, **26**, 4866-4873(2005)
- 38 K. Sakurai, T. Nagasaki, T. Kawazu, T. Nagasaki and Taku Satoh;
“An Oligonucleotide Carrier Based on β -1,3-Glucan s , Active DNA Release from Complexes, Active Transport of Exogenous Genes into the Nucleus, Synthesis of Chemically Modified Chitosan and a Study of Its Gene Transfection Efficiency”;
Non-viral Gene Therapy: Gene Design and Derivery, Springer-Verlag, 103-117, 155-164, 176-186, 307-314 (2005)
- 39 Karinaga, R., Jeong, Y., Shinkai, S. , Kaneko, K. and Sakurai, K.;
“Inclusion of DNA into Organic Gelator Fibers Made of Amphipathic Molecules and Its Controlled Release”;
Langmuir, **21**, 9398-9401 (2005)
- 40 Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Takahisa Anada, Takeshi Nagasaki, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai;
“Cholesterol-appended β -(1→3)-D-glucan schizophyllan for antisense oligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake”;
Bull. Chem. Soc. Jpn., **78**, 1821-1830 (2005)
- 41 Takahisa Anada, Ryouji Karinaga, Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Takeshi Nagasaki, Yoshio Kato, Kazunari Taira, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai;
“Linear double-stranded DNA that mimics an infective tail of virus genome to enhance transfectionB”;
J. of Controlled Release, **108** , 529–539 (2005)

- 42 Kazunori Koiwai, Kenji Tokuhisa, Ryouji Karinaga, Yasuya Kudo, Shota Kusuki, Yoichi Takeda and Kazuo Sakurai;
“Transition from a Normal to Inverted Cylinder for an Amidine-Bearing Lipid/pDNA Complex and its Excellent Transfection”;
Bioconjugate Chem., **16**, 1349-1351(2005)
- 43 Takahisa Anada, Naoko Okada, Jusaku Minari, Ryouji Karinaga, Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai;
“CpG DNA/zymosan complex to enhance cytokine secretion owing to the cocktail effect”;
Bioorg. Med. Chem. Lett., **16**, 1301-1304(2006)
- 44 Ryouji Karinaga, Takahisa Anada, Jusaku Minari, Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Junji Fukuda, Kohji Nakazawa, Teruaki Hasegawa, Munenori Numata, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai;
“Galactose-PEG Dual Conjugation of β -(1→3)-D-glucan schizophyllan for antisense oligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake”;
Biomaterials, **27**, 1626-1635(2006)
- 45 Kentaro Miyoshi, Kazuya Uezua, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai;
“Inter-chain and arrayed hydrogen bonds in β -1, 3-D-Xylan triple helix predicted by quantum mechanics calculation”;
Carbohydrate polymers, **66**, 352-356(2006)
- 46 大河平紀司、上江洲一也、新海征治、櫻井和朗;
“多糖 β -1,3 グルカンと核酸からなる複合体の性質と核酸医薬 DDS への応用 その 1 : 多糖・核酸複合体の発見まで”;
Antisense, **10**, 3-14(2006)
- 47 三好賢太郎、上江洲一也、櫻井和朗、新海征治;
“計算化学を用いた多糖/核酸複合体の構造検討”;
高分子論文集, **63**, 451-457(2006)
- 48 犬長亮二、三成寿作、櫻井和朗、新海征治;
“多糖・核酸複合体を利用したアンチセンス DNA の肝細胞への効果的なデリバリー”;
高分子論文集, **63**, 468-475(2006)
- 49 Naohiko Shimada, Ken J. Ishii, Yoichi Takeda, Cevayir Coban, Yuichi Torii, Seiji Shinkai, Shizuo Akira and Kazuo Sakurai;
“Synthesis and in-vitro Characterization of Antigen-Conjugated Polysaccharide as a CpG DNA Carrier”;
Bioconjugate Chem., **17**, 1136-1140(2006)
- 50 Mika Kasuga, Naohiko Shimada, Yoichi Takeda, Seiji Shinkai, and Kazuo Sakurai;
“Encapsulation of Ferric Cytochrome c into the Nano-Particle Made from a Natural Polysaccharide: Schizophyllan”;
Chem., Lett., **35**, 1120-1121(2006)
- 51 三成寿作, 嶋田直彦, 上江洲一也, 新海征治, 櫻井和朗;
“多糖 β -1,3 グルカンと核酸からなる複合体の性質と核酸医薬 DDS への応用 その 2 : 多糖・核酸複合体の性質まで”;
Antisense, **10**, 23-34(2006)
- 52 Kenji Tokuhisa, Emi Hamada, Ryouji Karinaga, Yoichi Takeda, Naohiko Shimada, Shinichi Kawasaki and Kazuo Sakurai;
“Polyrotaxane/DNA Conjugate by Use of Intercalation: Bridge Formation between DNA Double Helices”;
Macromolecules, **39**, 9480-9485(2006)

- 53 Jeong, Y., Uezu. K., Sakurai, S., Masunaga, H., Inoue, K., Sasaki, S., Shimada, N., Takeda, Y., Kaneko, K. and Sakurai, K.;
“Complex Made from N,N-Bis(carboxymethyl) Glutamate Tetrasodium Salt and Sodium Oleate that Forms a Highly Ordered Lamella in Gel Phase”;
Bull. Chem. Soc. Jpn., **80**, 410-417(2007)
- 54 Kentaro Miyoshi, Kazuya Uezu, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai;
“Molecular Dynamics Simulation for b-1,3-D-glucan in Aqueous Solutions: Attachment of One Side Chain Induces an Entire Structural Change”;
Fiber, **62**, 251-257(2006)
- 55 Jusaku Minari, Ryouji Karinaga, Seiji Shinkai, and Kazuo Sakurai;
“Polysaccharide/DNA Supermolecule: Triple Helix Consisting of One Polynucleotide and Two Polysaccharide Chains and its Application to Oligo-DNA Delivery Interface: Polynucleotide, Polysaccharide, Molecular Recognition”;
BOTTOM-UP NANOFABRICATION: Supramolecules, Self-Assemblies, and Organized Films, chapter 85, 1, *in press*
- 56 Jusaku Minari, Takanori Kubo, Hideki Ohba, Naohiko Shimada, Yoich Takeda, Ryouji Karinaga, Takahisa Anada, Kazuya Koumoto, Takeshi Kawazu, Takeshi Nagasaki, Seiji Shinkai, and Kazuo Sakurai;
“Delivery of Antisense Oligonucleotides to Nuclear Telomere RNA by use of a Complex between Polysaccharide and Polynucleotide”;
Bull. Chem. Soc. Jpn., *in press*
- 57 Yoichi Takeda, Naohiko Shimada, Kenji Kaneko, Seiji Shinkai, and Kazuo Sakurai;
“Ternary Complex Consisting of DNA, Polycation, and a Natural Polysaccharide of Schizophyllan to Induce Cellular Uptake by Antigen Presenting Cells”;
Biomacromolecules, *in press*
- 58 Tadashi Okobira, Kentaro Miyoshi, Kazuya Uezu, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai;
“Molecular Dynamics Studies of Side Chain Effect on the B-1,3-D-Glucan Triple Helix in Aqueous Solution”;
Biomacromolecules, *submitted*
- 59 Tadashi Okobira, Kentaro Miyoshi, Kazuya Uezu, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai;
“Computational Modeling of Curdlan/Polynucleotide Complexes with Semiempirical Quantum Mechanics”;
Biochemical and Biophysical Research Communication, *submitted*
- 60 武田陽一, 嶋田直彦, 新海征治, 櫻井和朗;
“多糖ナノゲルによる CpG DNA/ポリカチオン複合体の抗原提示細胞への取り込み”;
Cellulose Communications, *in press*
- 61 Naohiko Shimada, Cevayir Coban, Yoichi Takeda, Masami Mizu, Jusaku Minari, Takahisa Anada, Yuichi Torii, Seiji Shinkai, Shizuo Akira, Ken J. Ishii, Kazuo Sakurai; “A Polysaccharide Carrier to Effectively Deliver Native Phosphodiester CpG DNA to APCs”; Bioconjugate Chem., *accepted*
- 62 Naohiko Shimada, Tadashi Okobira, Yoichi Takeda, Seiji Shinkai and Kazuo Sakurai;
“Polysaccharide-Templated Helical Assembling of 2-Anilinonaphthalene-6-sulfonic Acid”; Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, *submitted*
- 63 Kazuo Sakurai, Tomoki Nishimura, Naohiko Shimada, and Yoichi Takeda;
“DNA Binding of Tilorone: 1H NMR and Calorimetric Studies of the Intercalation”; Biochemistry, *submitted*
- 64 Yasuya Kudo, Shota Kusuki, Kazunori Koiwai, Naohiko Shimada, Yoichi Takeda, and Kazuo Sakurai;

- “An Amidine-Bearing Lipoplex targeting to Hepatocyte Cells”; Bioorg. Chem. Lett., *submitted*
- 65 Yoshikazu Koyama, Shigeki Ohshima, Shin Onodera, Jun Nishihira, Susumu Sato, Seiji Shinkai, Shuichiro Uehara, Yoichi Takeda, Naohiko Shimada, and Kazuo Sakurai; “Complexation of oligodeoxynucleotide with the β -(1→3)-D-glucan schizophyllan to increase stability in blood and potentiate the antisense drug efficacy *in vivo*”; J Controlled Release, *submitted*
- 66 Yoichi Takeda, Naohiko Shimada, Kenichi Eguchi, Mina Sakuragi, Andrew M. Kelly, and Kazuo Sakurai; “Water Triggered Vesicle–Micelle Transition in Organic Solvent”; J. Am. Chem. Soc., *submitted*
- 67 Naohiko Shimada, Yoichi Takeda, Seiji Shinkai, and Kazuo Sakurai; “Conformational change of DNA by minor groove-binder conjugated polymer”; Biomaterials, *submitted*
- 68 Naohiko Shimada, Yoichi Takeda, Seiji Shinkai, and Kazuo Sakurai; “pH-dependence of Polyamine induced Z-DNA in Poly(dG-dC)/Poly(dG-dC)”; Chem. Commun., *submitted*
- 69 Mina Sakuragi, Naohiko Shimada, Yoichi Takeda and Kazuo Sakurai; “Entrapment of Immature Amyloid Protofilaments in the Hydrophobic Domain in Schizophyllan”; Biomacromolecules, *submitted*

[2] プラスミドDNAデリバリーへの展開（大阪市大Gr）, 13件

- 70 Takeshi Nagasaki, Akinobu Taniguchi and Seizo Tamagaki; “Photoenhancement of Transfection Efficiency Using Novel Cationic Lipids Having a Photocleavable Spacer”; Bioconjugate Chem., **14**, 513-516(2003)
- 71 Takeshi Nagasaki, Teruhiko Myohoji, Taro Tachibana, Shiroh Futaki and Seizo Tamagaki; “Can Nuclear Localization Signals Enhance Nuclear Location of Plasmid DNA?”; Bioconjugate Chem., **14**, 282-286(2003)
- 72 Taku Satoh and Nobuo Sakairi; “Highly Regioselective Deoxyhalogenation at the C-6 Positions of N-Phthaloylchitosan with N-Halosuccinimide-Triphenylphosphine System.”; Chem. Lett., **32**, 1162-1163 (2003).
- 73 Taku Satoh, Takeshi Nagasaki, Nobuo Sakairi and Seiji Shinkai; “6-Amino-6-deoxychitosan. Preparation and Application as Plasmid Vector in COS-1 Cells.”; Chem. Lett., **33**, 340-341 (2004)
- 74 Takeshi Nagasaki, Masaya Hoji, Atsushi Uno, Taku Satoh, Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Long-Term Expression with Cationic Polymer Derived from a Natural Polysaccharide: Schizophyllan”; Bioconjugate Chem., **15**, 249-259(2004)
- 75 Takeshi Nagasaki, Takeshi Kawazu, Taro Tachibana, Seizo Tamagaki and Seiji Shinkai;

- “Enhanced nuclear import and transfection efficiency of plasmid DNA using streptavidin-fused importin-beta”;
J. Controlled Release, **103**, 199-207(2005)
- 76 Tsutomu Hamada, Yuko T. Sato, Kenichi Yoshikawa and Takeshi Nagasaki;
“Reversible Photoswitching in a Cell-Sized Vesicle”;
Langmuir, **21**, 7626-7628(2005)
- 77 佐藤琢、長崎健;
“分岐高分子を用いる遺伝子デリバリー”;
高分子, **55**, 156-160(2006)
- 79 Tomomi Jinta and Takeshi Nagasaki;
“Development of Molecular Machinery as Non-Viral Vectors”;
Chapter for book entitled "BOTTOM-UP NANOFABRICATION: Supramolecules, Self-Assemblies, and Organized Films" (AMERICAN SCIENTIFIC PUBLISHER), *in press*
- 80 Takeshi Nagasaki and Seiji Shinkai;
“The Concept of Molecular Machinery is Useful for Design of Light-Driven Gene Delivery Systems in the Mammalian Cell”;
Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, *in press*
- 81 Shinji Kakimoto, Tetsuji Moriyama, Toshizumi Tanabe, Seiji Shinkai, and Takeshi Nagasaki;
“Dual-ligand effect of transferrin and transforming growth factor alpha on polyethyleneimine mediated gene delivery”;
J. Control. Release, *submitted*
- 82 Taku Satoh; Shinji Kakimoto; Hiroshi Kano; Mika Nakatani; Seiji Shinkai; Takeshi Nagasaki;
“In vitro gene delivery to hepatocyte with galactosylated 6-amino-6-deoxychitosan as DNA carrier”;
Carbohydrate Research, *submitted*

[3] メッセンジャーRNA 分離システムの開発（生食研 Gr）, 3 件

- 83 Taro Kimura, Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Polysaccharide-Polynucleotide Complexes Part (XI): Novel Separation System of RNAs by Using Schizophyllum appendiculatum Column”;
Chem. Lett., **2002**, 1240-1241
- 84 木村太郎, 櫻井和朗, 新海征治;
“多糖シゾフィラムを利用した核酸の分離精製”;
高分子加工, **52**, 201-206(2003)
- 85 Taro Kimura, Akiko Beppu, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“A Separation Technique for Messenger RNAs by Use of Schizophyllum/poly(A) tail Complexation”;
Biomacromolecules, **6**, 174-179(2005)

- [4] β -1,3-グルカンを1次元ホストとするナノ材料の創製（九大Gr），30件
- 86 Munenori Numata, Takahiro Matsumoto, Mariko Umeda, Kazuya Koumoto, Kazuo Sakurai, Toyoki Kunitake and Seiji Shinkai; “Polysaccharide-Polynucleotide Complexes Part (15): Thermal Stability of Schizophyllan (SPG)/Poly(C) Triple Strands is Controllable by α -Amino Acid Modification”; Bioorg. Chem., **31**, 163-171(2003)
- 87 Takahiro Matsumoto, Munenori Numata, Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Takahisa Anada, Kazuo Sakurai, Takeshi Nagasaki and Seiji Shinkai; “Chemically-modified polysaccharide schizophyllan for antisense oligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake efficiency”; Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects, **1670**, 91-104(2004)
- 88 Teruaki Hasegawa, Mariko Umeda, Takahiro Matsumoto, Munenori Numata, Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Lactose-appended schizophyllan is a potential candidate for hepatocyte-targetted antisense carrier”; Chem. Commun., **2004**, 382-383
- 89 Teruaki Hasegawa, Tomohisa Fujisawa, Munenori Numata, Takahiro Matsumoto, Mariko Umeda, Ryouji Karinaga, Masami Mizu, Kazuya Koumoto, Taro Kimura, Shiro Okumura, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Schizophyllans carrying oligosaccharide-appendages as potential candidates for cell-targeted antisense carrier” Organic and biomolecular chemistry, **2**, 3091-3098(2004)
- 90 Takahiro Matsumoto, Mariko Umeda, Teruaki Hasegawa, Munenori Numata, Kazuo Sakurai, Kazuya Koumoto and Seiji Shinkai; “Poly(N-substituted-acrylamide)-branched Schizophyllans Are Useful for Selective Recovery of Polynucleotides through Convenient and Quick Precipitation Procedures”; Polymer J., **37**, 177-185 (2005)
- 91 Munenori Numata, Masayoshi Asai, Kenji Kaneko, Teruaki Hasegawa, Norifumi Fujita, Yumiko Kitada, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Curdlan and Schizophyllan (β -1,3-Glucans) Can Entrap Single Wall Carbon Nanotubes in Their Helical Superstructure”; Chem. Lett., **33**, 232-233(2004)
- 92 Teruaki Hasegawa, Tomohisa Fujisawa, Munenori Numata, Mariko Umeda, Takahiro Matsumoto, Taro Kimura, Shiro Okumura, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Single-Walled Carbon Nanotubes Acquire a Specific Lectin-affinity through Supramolecular Wrapping with Lactose-appended Schizophyllan”; Chem. Commun., **2004**, 2150-2151
- 93 Munenori Numata, Teruaki Hasegawa, Tomohisa Fujisawa, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “ β -1,3-Glucan (schizophyllan) can act as a one-dimensional host for creation of novel poly(aniline) nano-fiber structures”; Org. Lett., **6**, 4447-4450(2004)
- 94 Munenori Numata, Masayoshi Asai, Kenji Kaneko, Ah-hyun Bae, Teruaki Hasegawa, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Inclusion of Cut and As-grown Single-walled Carbon Nanotubes in the Helical Superstructure of Schizophyllan and Curdlan (b-1,3-Glucans)”; J. Am. Chem. Soc., **127**, 5875-5884(2005)
- 95 Teruaki Hasegawa, Tomohisa Fujisawa, Shuichi Haraguchi, Munenori Numata, Ryouji Karinaga, Taro Kimura, Shiro Okumura, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Schizophyllan-folate conjugate as a new non-cytotoxic and cancer-targeted antisense carrier”; Bioorg. Med. Chem. Lett., **15**, 327-330(2005)

- 96 Teruaki Hasegawa, Shuichi Haraguchi, Munenori Numata Tomohisa Fujisawa, Chun Li, Kenji Kaneko, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai;
“Schizophyllan Can Act as a One-Dimensional Host to Construct Poly(diacetylene) Nanofibers”;
Chem. Lett., **34**, 40-41(2005)
- 97 Munenori Numata, Kazuya Koumoto, Masami Mizu, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Parallel vs. anti-parallel orientation in curdlan/oligo(dA) complex as estimated by a FRET technique”; Organic & Bioorganic Chemistry, **3**, 2255-2261(2005)
- 98 Chun Li, Munenori Numata, Ah-Hyun Bae, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Self-assembly of supramolecular chiral insulated molecular wire”; J. Am. Chem. Soc., **127**, 4548-4549(2005)
- 99 Ah-Hyun Bae, Munenori Numata, Teruaki Hasegawa, Chun Li, Kenji Kaneko, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “One-dimensional Arrangement of Au Nanoparticles Utilizing a Helical Structure Constructed by Schizophyllan: A Unique Encounter of a Natural Product with Inorganic Compounds”; Angew. Chem. Int. Ed., **44**, 2030-2033(2005)
- 100 Munenori Numata, Chun Li, Ah-Hyun Bae, Kenji Kaneko, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai
“ β -1,3-Glucan polysaccharide can act as a one-dimensional host to create novel silica nanofiber structures”; Chem. Commun., **37**, 4655-4657(2005)
- 101 Teruaki Hasegawa, Tomohisa Fujisawa, Munenori Numata, Chun Li, Ah-hyun Bae, Shuichi Haraguchi, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Schizophyllan Acts as a One-dimensional Host to Accommodate 5,10,15,20-Tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrinatozinc Acetate to Produce Its Fibrous Superstructure”; Chem. Lett., **34**, 1118-1119(2005)
- 102 Chun Li, Munenori Numata, Teruaki Hasegawa, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai; “Water-soluble Polythiophene as an Optical Probe for Detection of the Helicity and Conformational Transition in Polysaccharides”; Chem. Lett., **34**, 1354-1355(2005)
- 103 Kazuo Sakurai, Kazuya Uezu, Munenori Numata, Teruaki Hasegawa, Chun Li, Kenji Kaneko and Seiji Shinkai; “ β -1,3-Glucan polysaccharides as novel one-dimensional hosts for DNA/RNA, conjugated polymers and nanoparticles”; Chem. Commun., **35**, 4383-4398(2005)
- 104 Chun Li, Munenori Numata, Teruaki Hasegawa, Tomohisa Fujisawa Shuichi Haraguchi, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai; “Water-soluble Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Nanocomposites Created by a Templating Effect of β -1,3-Glucan Schizophyllan”; Chem. Lett., **34**, 1532-1533(2005)
- 105 Teruaki Hasegawa, Shuichi Haraguchi, Munenori Numata, Chun Li, Ah-Hyun Bae, Tomohisa Fujisawa, Kenji Kaneko, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Poly(diacetylene)-nanofibers can be fabricated through photo-irradiation using natural polysaccharide schizophyllan as a one-dimensional mold”; Org. Biomol. Chem., **3**, 4321-4328(2005)

- 106 Teruaki Hasegawa, Mariko Umeda, Munenori Numata, Chun Li, Ah-Hyun Bae, Tomohisa Fujisawa, Shuichi Haraguchi, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Click chemistry on polysaccharides: a convenient, general, and monitorable approach to develop (1→3)- β -d-glucans with various functional appendages”; Carbohydr. Res., **341**, 35-40(2006)
- 107 Shuichi Haraguchi, Teruaki Hasegawa, Munenori Numata, Michiya Fujiki, Kazuya Uezu, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai; “Oligosilane-Nanofibers Can Be Prepared through Fabrication of Permethyldecasilane within a Helical Superstructure of Schizophyllan”; Org. Lett., **7**, 5605 -5608(2005)
- 108 Teruaki Hasegawa, Mariko Umeda, Munenori Numata, Tomohisa Fujisawa, Shuichi Haraguchi, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “Click Chemistry on Curdlan: A Regioselective and Quantitative Approach to Develop Artificial β -1,3-Glucans with Various Functional Appendages”; Chem. Lett., **35**, 82-83(2006)
- 109 Munenori Numata, Tomohisa Fujisawa, Chun Li, Shunichi Haraguchi, Masato Ikeda, Kazuo Sakurai and Seiji Shinkai; “ β -1,3-Glucan (Schizophyllan) Can Act as a One-Dimensional Host for Creating Chirally Twisted Poly(p-phenylene ethynylene)”; Supramolecular Chemistry, *in press*
- 110 Munenori Numata, Shingo Tamesue, Tomohisa Fujisawa, Shuichi Haraguchi, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai; “ β -1,3-Glucan Polysaccharide (Schizophyllan) Acts as a One-Dimensional Host for Creating Supramolecular Dye Assemblies”; Org. Lett, **8**, 5533-5536(2006)
- 111 Munenori Numata, Li Chun, Kenji Kaneko, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai; “Supramolecular Block Copolymers Created from Poly(styrene) by Wrapping with Helix-Forming β -1,3-Glucan Polysaccharide”; Macromolecules, *submitted*
- 112 Masato Ikeda, Teruaki Hasegawa, Munenori Numata, Kouta Sugikawa, Kazuo Sakurai, Michiya Fujiki, Seiji Shinkai; “Instantaneous Inclusion of a Polynucleotide and Hydrophobic Guest Molecules into a Helical Core of Cationic beta-1,3-Glucan Polysaccharide”; J. Am. Chem. Soc., *in press*
- 113 Munenori Numata, Shingo Tamesue, Takeshi Nagasaki, Kazuo Sakurai, and Seiji Shinkai; “ β -1,3-Glucan Schizophyllan Can Act as a One-dimensional Host to Arrange Icosahedral Carboranes”; Chem. Lett., *in press*
- 114 Munenori Numata, Kouta Sugikawa, Kenji Kaneko, and Seiji Shinkai; “Creation of Hierarchical Carbon Nanotube Assemblies through Alternative Packing of Complementary Semi-artificial β -1,3-Glucan/Carbon Nanotube Composites”; Angew. Chem. Int. Ed., *submitted*
- 115 Ah-Hym Bae, Munenori Numata, Sunao Yamada and Seiji Shinkai; “New approach to preparing one-dimensional Au nanowires utilizing a helical structure constructed by schizophyllan”; New J. Chem., *in press*

(2) 口頭発表

- ① 招待、口頭講演 151 件 (国内 111 件、海外 40 件)
 ② ポスター発表 88 件 (国内 73 件、海外 15 件)

〔国内発表〕

注 : (I) : 招待、(O) : 口頭、(P) : ポスター

No	学会名	場所	発表者 (所属)	タイトル (発表形式)	月/日/年
1	遺伝子・デリバリー研究会 第二回シンポジウム	京都テルサ	水雅美 (北九大)	シグフィランを利用したアンチセンス DNA の新規なデリバリーシステムの開発 (P)	5/17/02
2	第18回日本 DDS 学会	札幌市、 ロイトン札幌	水雅美 (北九大)	シグフィランを利用したアンチセンス DNA の新規なデリバリーシステムの開発 (P)	6/22/02
3	第39回化学関連九州大会	九州大学	櫻井和朗 (北九大)	シンクロトロン X 線小角散乱で見た糖鎖グルの超分子構造 (I)	7/19/02
4	3rd International Symposium on Design and Control of Advanced Molecular Assembly Systems	九州大学	新海征治 (九大)	One-dimensional aggregate for the design of organogelators and inorganic superstructures created by sol-gel transcription (O)	7/25/02
5	Gordon Research Conference on Structures and Properties	兵庫県、 光都	新海征治 (九大)	One-dimensional aggregate for the design of organogelators and inorganic superstructures created by sol-gel transcription (O)	7/28/02
6	化学工学会 第35回秋季大会	神戸大学	磯田隆聰 (北九大)	μ -チャンネルチップをシステム・イン・パッケージ化した電子回路デバイスの開発 (O)	9/18/02
7	第2回遺伝子・デリバリー研究会夏季セミナー	長崎市、稻佐山観光 H	長崎健 (大阪市大)	細胞内デリバリーの光制御 (O)	9/21/02
8	第17回生体機能関連 化学シンポジウム	豊中市、 大阪大学	水雅美 (北九大)	シグフィランを利用したアンチセンス DNA の新規な遺伝子キャリアー (P)	9/25/02
9			甲元一也 (北九大)	β -1,3-グルカンの核酸との相互作用における分子量の影響 (O)	
10			梅田真理子 (九大)	カーボラン硫酸と核酸との超構造複合体の形成 (P)	
11			谷口晶宣 (大阪市大)	光開裂性リボフレックスの促進機構解明 (P)	
12			長崎健 (大阪市大)	光開裂性カチオン脂質を用いた高効率遺伝子デリバリー (O)	
13			長崎健 (大阪市大)	光開裂性 PAMAM デンドリマーを用いた遺伝子デリバリー (P)	
14	第51回高分子討論会	九州工業大 学	沼田宗典 (九大)	蛍光共鳴エネルギー移動を利用したカーボラン-核酸複合体の構造評価 (P)	10/2/02
15			松本貴博 (九大)	化学修飾による β -1,3-グルカン系多糖の新機能の開発 (P)	
16			裏城賢 (北九大)	3重らせん構造を有するシグフィランおよびその核酸との複合体の電子顕微鏡観察 (O)	
17	第12回マイクロエレクトロニクスシンポジウム MES2002	大阪大学	磯田隆聰 (北九大)	半導体デバイス、パッケージ、モジュール、基板技術、実装プロセス また「MEMS」「センサー」に関わる新技術 (O)	10/8/02
18	高分子学会九州支部 若手研究会	八代市、ハーモニー H	櫻井和朗 (北九大)	新規な核酸・多糖複合体とその応用、SORST の研究を中心に (I)	11/21/02
19	ケミカルセンサ発表会	東京都、 早稲田大学	磯田隆聰 (北九大)	DNAを固定化できるバイオ流体デバイスの開発とその応用利用 (O)	11/27/02
20	IUPAC Polymer Conference (IUPAC-PC2002)	国立京都国際会館	櫻井和朗 (北九大)	Supramolecular Structure of Sugar-Integrated Organogels Explored with Synchrotron Small Angle X-Ray Scattering (I)	12/4/02
21			櫻井和朗 (北九大)	A New Triple Helix Consisting of One Polynucleotide and Two Polysaccharide Chains and its Application to a Gene Carrier (I)	
22			櫻井和朗 (北九大)	Polynucleotide/Polysaccharide Triple Helix and its Application to a Gene Carrier (I)	
23	第7回遺伝子医療研究会	吹田市、ライフサイエンス C	長崎健 (大阪市大)	NLS 化学修飾プラスミドを用いた in vitro トランスクレクション (P)	3/1/03

24	第19回機能性ホストゲスト化学研究会	東京都、成蹊大学	長崎健 (大阪市大)	核移行シグナルペプチド-プラスミドコンジュゲート体を用いたトランスフェクション (P)	3/17/03
25	第 83 回日本化学会春季年会	東京都、早稲田大学	松本貴博 (九大)	アミノ酸修飾による β -1,3-グルカンの核酸結合能の評価 (O)	3/18/03
26			梅田真理子(九大)	化学修飾 β -1,3-グルカンの合成と核酸との新規複合体の形成 (O)	
27			沼田宗典 (九大)	蛍光共鳴エネルギー移動を利用したカードラン-核酸複合体の構造評価 (O)	
28			長崎健 (大阪市大)	核移行シグナルペプチドはプラスミド DNA の核移行に有効か? (P)	
29	化学工学会第 68 年会	東京大学	三好賢太郎 (北九大)	分子軌道法による多糖-核酸複合体の構造解析 (P)	3/23/03
30	遺伝子・デリバリー研究会 第 3 回シンポジウム	東京都、竹橋会館	水雅美 (九大)	シゾフィランを利用してアンチセンス DNA の新規な遺伝子キャリアーの開発 (P)	5/9/03
31			川津猛 (大阪市大)	核移行シグナル化化学修飾 DNA による非ウイルスベクターの効率化 (P)	
32	第 52 回高分子学会年次大会	名古屋国際会議場	三好賢太郎 (北九大)	コンピュータケミストリーを用いたカードランに関する考察 (P)	5/28/03
33			甲元一也 (北九大)	シゾフィラン側鎖グルコースの複合体安定性に及ぼす影響— (P)	
34			水雅美 (北九大)	シゾフィラン (SPG) を利用したアンチセンス DNA の新規キャリアーの開発— (P)	
35	International Symposium on Polysaccharide Engineering 2003	大阪府立大学	上江洲一也 (北九大)	A novel triple helix consisting of one polynucleotide and two polysaccharide chains (P)	6/8/03
36			K. Sakurai (北九大)	シゾフィラン (SPG) を利用したアンチセンス DNA の新規遺伝子デリバリーシステムの開発 (I)	
37	第 19 回日本 DDS 学会	国立京都国際会館	水雅美 (北九大)	シゾフィラン (SPG) を利用したアンチセンス DNA の新規遺伝子デリバリーシステムの開発 (P)	6/19/03
38			長崎健 (大阪市大)	シゾフィラン (SPG) を利用したアンチセンス DNA の新規遺伝子デリバリーシステムの開発 (P)	
39	高分子学会 高分子基礎特性研究会	京大会館	櫻井和朗 (北九大)	2 本の糖鎖と 1 本の核酸からなる 3 重らせんの形成と解離 (I)	6/20/03
40	第 10 回グライコサイエンス若手の会	九州国立大学九重共同研修所	狩長亮二 (北九大)	アルカリ融解法による β -1,3-グルカン・核酸複合体の形成速度の促進 (P)	8/7/03
41			甲元一也 (北九大)	天然多糖を利用したアンチセンス DNA キャリアーの開発 (O)	
42			水雅美 (北九大)	シゾフィランを利用したアンチセンス DNA の新規遺伝子デリバリーシステムの開発 (P)	
43			穴田貴久 (北九大)	β -1,3-グルカンと核酸の複合体形成に関する側鎖グルコースの安定性、選択性に与える影響 (P)	
44	遺伝子・デリバリー研究会第 3 回夏期セミナー	ラフォーレ南紀白浜	長崎健 (大阪市大)	β -(1,3)-グルカン誘導体による遺伝子導入 (O)	9/12/03
45	第 52 回高分子討論会	山口大学	木村太郎 (生食研)	多糖シゾフィラン・核酸複合体における水溶性有機溶媒の添加効果 (O)	9/24/03
46			甲元一也 (北九大)	オリゴヌクレオチドキャリアーへの天然多糖シゾフィランの利用 (1) (P)	
47			穴田貴久 (北九大)	オリゴヌクレオチドキャリアーへの天然多糖シゾフィランの利用 (2) (P)	
48	生体機能関連化学部会 (第 18 回)・バイオテク部会 (第 7 回)合同シンポジウム	熊本大学	沼田宗典 (九大)	单糖系低分子ゲル化剤及び多糖系天然高分子による SWNT の安定分散化 (O)	10/12/03
49			長谷川謙明 (九大)	イオン性液体中における核酸・多糖相互作用 (P)	
50			木村太郎 (生食研)	多糖シゾフィランを用いた新規メッセンジャー-RNA 分離システム (O)	
51			松本貴博 (九大)	熱応答性 β -(1,3)-グルカンを用いた核酸分離剤の開発 (P)	
52			穴田貴久 (北九大)	β -グルカン検出試薬を利用した微量核酸の検出 (P)	
53			狩長亮二 (北九大)	アルカリ法による核酸シゾフィラン複合体の形成 (P)	
54			甲元一也 (北九大)	緩和スミス分解によるシゾフィランの側鎖グルコースの選択除去と側鎖グルコースの安定性、酵素耐性へ与える影響 (P)	

55			長崎健 (大阪市大)	光開裂性スペーサーを有する架橋ポリエチレンイミンのトランスフェクション光制御 (P)	
56	第13回 アンチセンスシンポジウム	大阪大学	K. Sakurai, (北九大)	多糖β1,3グルカンを用いたアンチセンスDNAおよび免疫刺激 CpG モチーフのデリバリー (O)	12/1/03
57	1st International Symposium on Biomolecular Chemistry	淡路夢舞台国際会議場	T. Nagasaki (大阪市大)	Biodegradable Gene Carrier Based on β-(1,3)-Glucan, Schizophyllan (P)	12/4/03
58	第25回日本バイオマテリアル学会	大阪国際会議場	長崎健 (大阪市大)	β-(1,3)-グルカンを基体とする遺伝子キャリアーの構築 (P)	12/16/03
59	International Symposium on Nano-Biotechnology & 6th International Conference on Protein Phosphatases	岡山大学	T. Nagasaki (大阪市大)	Utilization of importin protein for nuclear localization of plasmid DNA (O)	2/19/04
60			T. Satoh (大阪市大)	6-Amino-6-deoxychitosan/plasmid DNA Complex: Characterization and Evaluation as a Gene Transfer Agent for Mammalian Cells (O)	
61	日本化学会第 84 回春季年会	関西学院大学	佐藤琢 (大阪市大)	6-アミノ-6-デオキシキトサンの哺乳類細胞への遺伝子導入活性評価 (O)	3/26/04
62			長崎健 (大阪市大)	カチオン化シグマフランを用いた動物細胞への遺伝子導入 (O)	
63			穴田貴久 (北九大)	化学修飾シグマフランを利用したアンチセンスオリゴヌクレオチドキャリヤーの開発 (O)	
64			川津猛 (大阪市大)	核内移行タンパクによるプラスミドDNAの核内移行促進 (O)	
65			長崎健 (大阪市大)	ビオチン・アビシン相互作用を利用した核内移行タンパク-プラスミドDNAコンジュゲート体形成 (O)	
66			木村太郎 (生食研)	多糖シグマフラン・核酸相互作用を用いた新規メッセンジャーRNA分離システムの開発 (O)	
67			新海征治 (九大)	分子認識に基づく機能性超分子システムの創製 (I)	
68			甲元一也 (北九大)	シグマフランの化学修飾による複合体中の核酸鎖の加水分解速度の抑制 (O)	
69			朝井雅剛 (九大)	beta-1,3-gulucan-カーボンナノチューブ複合体の形成その構造評価 (O)	
70			松本貴博 (九大)	β-1,3-グルカン機能性高分子コンジュゲートの構築と機能評価 (P)	
71			梅田真理子 (九大)	アゾベンゼン修飾 β-1,3-グルカンを用いた新規機能性材料の開発 (O)	
72			長谷川輝明 (九大)	ラクトース修飾シグマフランによる肝細胞特異的アンチセンスデリバリー系の構築 (O)	
73			狩長亮二 (北九大)	ポリエチレングリコールを導入したシグマフランを利用した新規アンチセンスキャリアー (O)	
74	遺伝子・デリバリー研究会第 4 回シンポジウム	京都テルサ	櫻井和朗 (北九大)	多糖・核酸複合体を用いた天然型 CpG モチーフのエンドソームへのデリバリー (P)	5/10/04
75			狩長亮二 (北九大)	ポリエチレングリコールを修飾した天然多糖を用いたアンチセンスキャリアーの開発 (P)	
76			宇野篤 (大阪市大)	β-1,3-グルカン骨格に基づく in vitro 長期発現 (P)	
			佐藤琢 (大阪市大)	高効率で毒性の低い天然物由来トランスフェクション剤:6-アミノ-6-デオキシキトサン (P)	
78			甚田知美 (大阪市大)	光開裂性ポリエチレンイミンによるトランスフェクション制御 (P)	
79			川津猛 (大阪市大)	インポーティン β を利用したプラスミドDNA の核内移行促進 (O)	
80	第 65 回分析化学討論会	琉球大学	穴田貴久 (北九大)	β-1,3-グルカン検出試薬による核酸/多糖複合体形成を利用した微量核酸分析 (P)	5/15/04
81	第 53 回高分子学会年次大会	神戸国際会議場	長谷川輝明 (九大)	ラクトース修飾 SPG によるカーボンナノチューブ-レクチン間の特異的相互作用制御 (O)	5/25/04
82	第 20 回日本 DDS 学会	新宿京王プラザホテル	長崎健 (大阪市大)	カチオン化シグマフランを用いた導入遺伝子の長期発現 (O)	7/15/04
83			佐藤琢 (大阪市大)	新規非ウィルス性遺伝子導入剤:6-アミノ-6-デオキシキトサン (O)	
84			長崎健 (大阪市大)	インポーティンを用いたプラスミドDNAの核内移行促進 (O)	
85	第 41 回化学関連支部	北九州国際	狩長亮二(北)	膜融合型官能基を化学修飾した天然多糖シ	7/17/04

	合同九州大会	会議場	九大)	ゾフィランの核酸キャリアへの応用 (P)	
86	第18回キチン・キトサンシンポジウム	成蹊大学	佐藤琢 (大阪市大)	6-アミノ-6-デオキシキトサンによる動物細胞への遺伝子導入 (O)	8/5/04
87	遺伝子・デリバリー研究会夏期セミナー	登別市、ブリンス H 石水亭	長崎健 (大阪市大)	非ウイルスベクターにおける核内輸送因子の利用 (O)	8/11/04
88	九州地区高分子若手研究会	休暇村志賀島	狩長亮二 (北九大)	核酸医薬キャリアへの応用を目的とした天然多糖シゾフィランの機能化 (O)	8/20/04
89	第53回高分子討論会	北海道大学	狩長亮二 (北九大)	核酸医薬デリバリーシステムへの志向を目指した天然多糖シゾフィランの機能化 (O)	9/14/04
90			木村太郎 (生食研)	多糖シゾフィランを利用したメッセンジャーRNAの識別と分離 (O)	9/15/04
91			三好賢太郎 (北九大)	Structural Analysis of β -1,3-glucan-nucleic acid Complex with Semi-Empirical MO Calculations (O)	9/16/04
92			穴田貴久(北九大)	シゾフィラン結合部位導入DNAによる新規遺伝子デリバリー (P)	
93			柿本真司 (大阪市大)	ビオチン化トランスフェリンを利用した遺伝子導入促進 (P)	10/8/04
94	第19回生体関連機能シンポジウム	東京大学	長崎健 (大阪市大)	ストレプトアビシン融合インポーティンタンパクを用いたプラスミドDNAの核内移行促進 (O)	10/8/04
95			沼田宗典 (九大)	β 1,3グルカンを一次元ホストとして利用した機能性材料の創製 (P)	10/8/04
96			長谷川謙明 (九大)	シゾフィラン誘導体によるカーボンナノチューブの超分子的機能化 (O)	10/9/04
97	International Symposium on NanoOrganization and Function	東京工業大学	徳久憲司 (北九大)	Fluorene and its Derivatives as a New DNA Intercalator (P)	11/12/04
98	化学工学会九州支部沖縄大会	琉球大学	三好賢太郎 (北九大)	計算化学を用いた Beta-1,3-グルカンの結晶構造および動的挙動解析 (O)	11/21/04
99	第14回アンチセンスシンポジウム	東京工業大学	穴田貴久(北九大)	多糖シゾフィランによる直鎖DNA修飾法と遺伝子導入への応用 (O)	12/2/04
100			狩長亮二(北九大)	β -1,3-グルカン/アンチセンスオリゴ複合体を用いたアンチセンス効果の向上 (P)	12/3/04
101	第7回生命化学研究会シンポジウム	フォレスト仙台	長崎健 (大阪市大)	HVJ-Eベクター搭載核内移行性遺伝子 (P)	3/26/05
102	日本化学会 第85春季年会	神奈川大学	ベアヒョン (九大)	β 1,3グルカンを1次元ホストとして利用した金ナノ粒子の配列制御 (O)	3/26/05
103			沼田宗典 (九大)	β 1,3グルカンを1次元ホストとして利用したポリアリソチレンナノファイバーの創製 (O)	
104			沼田宗典 (九大)	β 1,3グルカンが形成する1次元反応場を利用したシリカナノファイバーの創製 (O)	
105			長谷川謙明 (九大)	シゾフィランをもちいた細胞標的性アンチセンスキャリアーの開発 (O)	
106			原口修一 (九大)	多糖・シゾフィランを一次元重合場として用いたポリアセチレンナノファイバーの構築 (O)	
107			李春 (九大)	β -1,3-グルカンとの相互作用を利用したポリチオフェンへの不斉誘起 (O)	
108			志賀敏記 (大阪市大)	二糖修飾ポリエチレンイミンの合成と遺伝子キャリアーとしての評価 (O)	
109	第5回遺伝子・デリバリー研究会シンポジウム	東京大学	長崎健 (大阪市大)	核内移行因子を利用した遺伝子デリバリー (O)	5/21/05
110			佐藤琢 (大阪市大)	ラクトース修飾 6-アミノ-6-デオキシキトサンを用いた <i>in vitro</i> トランスフェクション (P)	
111			甚田知美 (大阪市大)	糖受容体を介した遺伝子デリバリーを目的とした非ウイルスベクターの合成と評価 (P)	
112			柿本真司 (大阪市大)	複数のレセプター結合因子を用いた遺伝子発現促進 (P)	
113	第21回日本DDS学会	ハウステンボスJR全日空H	柿本真司 (大阪市大)	複数のレセプター結合因子を用いた遺伝子導入促進 (P)	7/22/05
114			櫻井和朗 (北九大)	多糖・核酸複合体を用いた天然型CpGモチーフのエンドゾームへのデリバリー (O)	
115	セルロース学会	九州大学医学部	櫻井和朗 (北九大)	天然多糖シゾフィランを用いた核酸医薬キャリアーの創製 (O)	7/22/05

116	The 8th SPSJ International Polymer Conference	福岡国際会議場	S.SHINKAI (九大)	Molecular Transcription as a New Concept to Create Organic/Inorganic Superstructures (I)	7/26/05
117	第5回遺伝子・デリバリー研究会夏期セミナー	パレスホテル箱根	柿本真司 (大阪市大)	マルチファンクションPEIポリプレックスによる遺伝子導入(O)	8/1/05
118			甚田知美 (大阪市大)	マイクロインジェクションによる糖修飾ポリエチレンインの核内移行評価と発現効率(O)	
119			佐藤琢 (大阪市大)	ラクトース修飾6-アミノ-6-デオキシキトサンによる動物細胞への遺伝子導入(O)	
120			櫻井和朗 (北九大)	多糖・核酸複合体を用いた天然型CpGモチーフのエンドゾームへのデリバリー(O)	8/3/05
121			嶋田直彦 (北九大)	多糖SPGを用いたCpGDNAのデリバリー(O)	
122	第35回構造有機化学討論会	大阪市立大学	長崎健 (大阪市大)	カチオンアゾ脂質による分子集合形態の光制御と遺伝子導入への応用(O)	9/10/05
123	12th International Conference on Boron Chemistry	東北大学	S.SHINKAI (九大)	Boronic Acids for the Design of Potential Sensors for Anions and Saccharides (O)	9/12/05
124	日本学術会議材料研究会	京都市	櫻井和朗 (北九大)	アミジン基を有する脂質とDNAが作るポリイオン複合体の構造(O)	9/16/05
125	第20回生体機能化学関連シンポジウム	名古屋市立大学	沼田宗典 (九大)	多糖・B-1, 3-グルカンを1次元ホストとした新規ナノコンポジットの創製(O)	9/17/05
126			嶋田直彦 (北九大)	抗原タック質をコンジュゲートさせたCpGODNキャリアとしてのシゾフィランの性質(O)	
127			櫻井和朗 (北九大)	天然多糖シゾフィランを用いた核酸医薬キャリアーの創製(O)	
128	第54回高分子討論会	山形大学	長谷川輝明 (九大)	クリックケミストリーを利用した多糖の部位特異的かつ定量的な修飾法の開発とその応用(O)	9/21/05
129			櫻井和朗 (北九大)	多糖ベータ1, 3グルカンをキャリアーに用いた免疫刺激性CpGモチーフのデリバリー(O)	
130			長崎健 (大阪市大)	糖修飾による核内移行性遺伝子複合体の調製(O)	9/22/05
131	日本コンピュータ化学会2005秋季年会	徳島大学	大河平紀司 (北九大)	MD法によるB-1,3-グルカンの構造解析(P)	10/16/05
132	特許流通フェア2005 in 九州	西日本総合展示場	木村太郎 (生食研)	メッセンジャーRNAの分離方法(P)	10/26/05
133	第19回分子シミュレーション討論会	自然科学研究機構・岡崎C	大河平紀司 (北九大)	計算化学的手法を用いた多糖および多糖・核酸複合体の構造解析(P)	11/30/05
134	SORSTプロジェクト横断計算科学研究会(第二回)	東京大学	上江洲一也 (北九大)	計算化学的手法を用いた多糖／核酸複合体の構造解析(O)	1/17/06
135	文科省ナノテク総合支援Pr.「分子・物質総合合成解析支援グループ」成果発表会	京都大学	沼田宗典 (九大)	多糖・B1, 3グルカンの1次元ホスト機能を利用したナノコンポジット群の創製(O)	3/15/06
136	日本化学会第86春季年会	日本大学理工学部	木村太郎 (生食研)	アルキル基修飾シリカを用いたメッセンジャーRNAの新規分離方法(O)	3/27/06
137			為末真吾 (九大)	多糖・シゾフィランが形成する1次元ナノ空間を利用した色素分子の配向制御(O)	
138			沼田宗典 (九大)	多糖・シゾフィランのラッピング特性を利用した新規ブロックポリマーの創製(O)	
139			原口修一 (九大)	多糖・シゾフィランのinduced-fit機構によるらせん状オリゴシランの形成(O)	
140			佐藤琢 (大阪市大)	ガラクトース修飾6-アミノ-6-デオキシキトサンの合成と哺乳類細胞への遺伝子導入(O)	
141			嶋田直彦 (北九大)	疎水プローブを使った多糖シゾフィランへの物質取り込み解析(P)	
142			楠木翔太 (北九大)	アミジン基を有するカチオン性脂質を用いた遺伝子導入(O)	
143			春日美香 (北九大)	天然多糖シゾフィラン(SPG)とシトクロムcの相互作用解析(P)	
144			武田陽一 (北九大)	多糖シゾフィラン/カチオン化セルロース/DNA三元複合体の形成と評価(O)	

145			西村智貴 (北九大)	インターフェロン誘導物質 Tilorone と DNAとの相互作用に関する熱力学的検討 (O)	
146			嶋田直彦 (北九大)	抗原タンパク質を結合した多糖 β -(1-3)グルカンによる免疫刺激性 CpG DNA のデリバリー (O)	
147	遺伝子・デリバリー研究会、第6回 シンポジウム	九州大学医学部	柿本真司 (大阪市大)	デュアルレセプター認識ベクターによる遺伝子発現促進 (O)	5/18/06
148			中谷美香 (大阪市大)	ラクトース修飾 6-アミノ-6-デオキシキトサンのトランスフェクション活性に及ぼすアニオニコーティング効果 (P)	
149			吉田雅俊 (大阪市大)	インボーティン β を用いたデコイオリゴ核酸の核内移行への影響 (P)	
150	第 55 回高分子学会年次大会	名古屋国際会議場	武田陽一 (北九大)	カチオン性高分子/DNAからなるポリオノ複合体を内包した多糖ナノゲルの性質 (O)	5/24/06
151			櫻井和朗 (北九大)	Intercalation を利用した DNA 封入ミセルの作成 (O)	
152			工藤泰也 (北九大)	ガラクトースを持つ糖脂質を含む Lipoplex の構造と肝細胞へのターゲッティング (P)	5/25/06
153			嶋田直彦 (北九大)	抗原タンパクをコンジュゲートした多糖シグマフィランによる CpG DNA のデリバリー (O)	
154			沼田宗典 (北九大)	多糖・シグマフィラン・機能性高分子複合体群の創製とそのバイオマテリアルとしての応用 (O)	5/26/06
155			櫻木美菜 (北九大)	多糖・タンパク間の相互作用を利用したアミロイド纖維形成の阻害 (P)	
156			嶋田直彦 (北九大)	多糖シグマフィランによる疎水性プローブの選択的取り込み (P)	
157	第1回ホストゲスト化学シンポジウム	筑波国際会議場	長崎健 (大阪市大)	光応答性カチオン脂質を用いた膜揺らぎ制御によるトランスフェクション活性向上 (O)	5/29/06
158	第 22 回日本 Drug Delivery System (DDS) 学会	東京国際交流会館	柿本真司 (大阪市大)	デュアルレセプター結合因子による遺伝子導入の増強 (O)	7/7/06
159			長崎健 (大阪市大)	マイクロインジェクションした糖修飾ポリプレックスの核内移行挙動 (O)	7/8/06
160	第 43 回化学関連支部合同九州大会	北九州国際会議場	木村太郎(生食研)	ODS 固相抽出カラムを用いたメッセンジャー-RNA 抽出法 (P)	7/8/06
161	SAS2006	国立京都国際会館	櫻井和朗 (北九大)	Transition from a Normal to Inverted Cylinder for an Amidine-Bearing Lipid/pDNA Complex Explored with Synchrotron SAXS (P)	7/12/06
162	セルロース学会第 13 回年次大会	東京大学	大河平紀司 (北九大)	計算化学的手法を用いた β -1,3-グルカンの構造解析 (P)	7/14/06
163	第 2 回生命化学国際シンポジウム ISBC2006	甲南大学	長崎健 (大阪市大)	Sugar-controlled intracellular trafficking of disaccharide-modified polyplexes (2 糖修飾ポリプレックスの細胞内動態挙動) (P)	8/8/06
164	第 20 回キチン・キトサンシンポジウム	福井工業大学	佐藤琢 (大阪市大)	ガラクトース修飾 6-アミノ-6-デオキシキトサンによる肝細胞への遺伝子導入 (O)	8/10/06
165	遺伝子・デリバリー研究会 第6回 夏期セミナー	みのお山荘 風の杜	佐藤琢 (大阪市大)	6-デオキシアミノキトサンのガラクトース修飾による遺伝子導入効率の向上 (O)	9/7/06
166			柿本真司 (大阪市大)	デュアルレセプター結合因子の利用による遺伝子導入の増強 (O)	9/8/06
167	第 55 回高分子討論会	富山大学	木村太郎 (生食研)	天然メッセンジャー-RNA のアルキル基修飾シリカへの吸着挙動 (P)	9/20/06
168			長崎健 (大阪市大)	トランスフェクション活性に影響を及ぼす光応答性脂質の会合挙動 (O)	
169			櫻井和朗 (北九大)	多糖シグマフィランを用いたアンチセンスのデリバリー・ビボでの実証性評価 (O)	
170	第21回生体機能関連化学会・第9回バイオテクノロジー部会・第9回生命化学研究合同会シンポジウム	京都大学	柿本真司 (大阪市大)	PEI 遺伝子導入におけるデュアルリガンド効果 (O)	9/28/06
171			沼田宗典 (九大)	多糖・シグマフィラン・機能性高分子複合体のバイオマテリアルとしての応用 (P)	
172	第 16 回アンチセンスシンポジウム	国立京都国際会館	嶋田直彦 (北九大)	遺伝子キャリアーとしてのマイナーグループバイナダー結合型ポリマーと DNA の複合体構造の評価 (P)	11/27/06

173	UT Symposium on Nano Bio Integration "NANO BIO-TOKYO 2006"	東京大学	楠木翔太 (北九大)	アミジン基を有するカチオン性脂質を用いた遺伝子導入 (P)	12/5/06
174			濱田衣美 (北九大)	ベンジルアミン基を有する脂質を用いた遺伝子導入剤の開発	
175			三成寿作 (北九大)	CpG DNA のクラスター化による免疫増強効果	
176			福田直也 (北九大)	核酸の安定化を目指した新規な多糖・核酸コンジュゲートの合成	
177			柿本真司 (大阪市大)	Enhancement of transfection efficiency by multiple ligands introduced polymeric gene delivery (P)	
178			木村太郎 (生食研)	メッセンジャーRNAの疎水性シリカへの選択的吸着 (O)	
179	日本化学会 第 87 春季年会	関西大学	嶋田直彦 (北九大)	多糖・シグマフイルンによる疎水性プローブの選択的取り込み (O)	3/27/07
180			原口修一 (九大)	ホスト機能を持つ多糖をインターフェースとした有機無機ナノコンポジットの創製 (O)	
181			杉川幸太 (九大)	イオン性基修飾カーボラン-SWNT 複合体の形成とその階層構造制御 (O)	
182			為末真吾 (九大)	多糖・シグマフイルンが形成する1次元ナノ空間を利用したホウ素クラスター・カルボランの一 次元組織化 (O)	
183			為末真吾 (九大)	多糖・シグマフイルンによるラッピングとホウ酸架橋をキープロセスとした SWNT の階層 (O)	
184			池田将 (九大)	多糖・カチオン化カーボランのゲスト分子包接挙動化 (O)	

〔海外発表〕

注：(I)招待、(O)口頭、(P)ポスター

No	学会名	場 所	発表者 (所属)	タイトル (発表形式)	月/日/年
1	Vielberth Lectureship 賞受賞講演会	ドイツ, レーゲンスブルグ大学	新海征治 (九大)	Molecular design of sugar interfaces aiming at sensing and DNA/RNA binding (I)	5/13/02
2	27th International Symposium on Macro-cyclic Chemistry	米国、ユタ、Park City	新海征治 (九大)	Molecular Design of Artificial Receptors with Positive homotropic allosterism (I)	6/24/02
3	224 th ACS National Meeting	米国、ボストン	甲元一也 (北九大)	Chemical modification of curdlan: Characteristic complexation with polynucleotides by control of the molecular weight (P)	8/18/02
4		米国、ボストン	櫻井和朗 (北九大)	NOVEL DNA-POLYSACCHA-RIDE TRIPLE HELIX AND ITS APPLICATION TO A GENE CARRIER (I)	8/22/02
5	SAS2002	イタリー、ベニス	櫻井和朗 (北九大)	Synchrotron Small Angel X-ray Scattering from Organo Gelators (I)	8/27/02
6	UCLA NANOSYSTEMS SEMINAR	米国、ロサンゼルス, UCLA	新海征治 (九大)	Dynamic Sugar and Other Carbohydrate Interfaces aimed at Sensing, Imprinting, and DNA/RNA Binding (O)	11/12/02
7	30th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Soc.	Scotland, Glasgow	長崎健 (大阪市大)	Efficient Gene Delivery System Using Photo-Cleavable Lipids: Enhancing DNA Escape from Endocytic Vesicles by UV Irradiation (P)	7/22/03
8	第1回合成リセプターに関する世界会議	スペイン, リスボン	新海征治 (九大)	Molecular Design of Synthetic Receptors with Dynamic, Imprinting, and Allosteric Functions (I)	10/16/03
9	スイス連邦工科大学におけるセミナー	スイス, チューリッヒ	新海征治 (九大)	Molecular Transcription of Organic Assemblies Creates Novel Organic and Inorganic Superstructures (I)	10/19/03
10	レイクパスツール大学 ISIS 研究所	フランス, ストラスブール	新海征治 (九大)	(1) Molecular transcription of organic assemblies creates novel organic and inorganic superstructures. (2) Molecular design of dynamic sugar interfaces aiming at sensing, imprinting and DNA/RNA binding. (I)	12/1/03
11	Twente 大学 化学工学科	オランダ, アムステルダム	新海征治 (九大)	Molecular design of dynamic sugar interfaces aiming at sensing, imprinting and DNA/RNA binding, (I)	12/8/03
12	7th World Biomaterials Congress	Sydney, Australia	長崎健 (大阪市大)	Polysaccharide Schizophyllan-Based Plasmid DNA Carrier (O)	5/17/04
13	31st Annual Meeting and Exposition of the Controlled Release Soc.	Hawaii, U.S.A.	櫻井和朗 (北九大)	A Novel Polysaccharide Carrier for Functional Oligonucleotides (O)	6/15/04
14	2004 ISMC/RACIOC Chemistry Conference	オーストラリア, ケアンズ	沼田宗典 (北九大)	Curdlan and Schizophyllan (β -1, 3-Glucans) Can Entrap Shingle Wall Carbon Nanotubes in Their Helical Superstructure (O)	7/5/04
15			新海征治 (九大)	Schizophyllan(β -1,3-glucans) as a one-dimensional host to entrap DNA/RNA and single walled carbon nanotubes (O)	7/5/04
16	XIIIth International Symposium on Supra molecular Chemistry	South bend, USA	長谷川憲明 (九大)	Lactose-appended Schizophyllan can Mediate Specific Interactions between Single-Walled Carbon Nanotubes and Lectins (P)	7/25/04
17			新海征治 (九大)	Molecular Transcription for the Creation of Novel Superstructures (I)	7/27/04
18	Prof. Eisenberg 招待 講演	Montreal, Canada	櫻井和朗 (北九大)	A Noble Triple Helix Consisting One Polynucleotide and Two Polysaccharide Chains (I)	8/16/04

19	Prof. Leaf の招待講演	Pittsburgh, PA, U.S.A..	櫻井和朗 (北九大)	A Noble Polysaccharide DNA-Carrier to Deliver CpG Motifs to Endosome (I)	8/18/04
20	Prof. MacKnight 招待講演	Amherst, Massachusetts, U.S.A.	櫻井和朗 (北九大)	A Noble Triple Helix Consisting One Polynucleotide and Two Polysaccharide Chains (I)	8/20/04
21			櫻井和朗 (北九大)	A New triple helix consisting of one polynucleotides and two polysaccharide chains (O)	8/25/04
22	The 228th ACS National Meeting,	Philadelphia, PA, U.S.A.	櫻井和朗 (北九大)	A noble polysaccharide DNA-carrier to deliver CpG motifs to endosome (O)	8/26/04
23			櫻井和朗 (北九大)	Small angle X-ray scattering from cyclic bis-urea/primary alcohol organogels (O)	8/26/04
24	Bath Functional Molecules I; Supramolecular Chem.	Bath, England	新海征治 (九大)	Molecular Transcription for the Creation of Novel Superstructures (I)	9/9/04
25	12th International Pharmaceutical Technology Symposium	Istanbul, Turkey	長崎健 (大阪市大)	Enhanced nuclear import of plasmid DNA using streptavidin-fused importin-b (P)	9/13/04
26	The 12th Annual Congress of the European Society of Gene Therapy	Tapmere, Finland	佐藤琢 (大阪市大)	Preparation and Evaluation of a Novel Polysaccharide-based Gene Carrier: 6-amino-6-deoxychitosan (P)	11/5/04
27			上江洲一也 (北九大)	Computational structural analysis of β-1,3-glucan-polynucleotide complex (P)	3/13/05
28			上江洲一也 (北九大)	Hydrogen-bonding forms to maintain β-1,3-glucan triple helix (P)	3/13/05
29	The 229th ACS National Meeting	San Diego, CA, USA	穴田貴久 (北九大)	Gene delivery system using polysaccharide schizophyllan and poly(dA) tailed DNA '(O)	3/17/05
30			櫻井和朗 (北九大)	A new triple helix consisting of one polynucleotide and two polysaccharide chains and its application to DDS '(O)	3/17/05
31	Spring School 2005, “Supramolecular Functional Materials”	スイス, ムルテン	新海征治 (九大)	Molecular recognition systems designed on dynamic scaffolds (I)	4/12/05
32	Trends in Organic Chem. Synthetic Receptors	Sweden, Lund	新海征治 (九大)	Molecular Design of Dynamic Recognition Systems Aiming at Sensing, Imprinting and DNA/RNA-Binding (I)	4/13/05
33	8th Annual Meeting of American Society of Gene Therapy	St. Louis, Missouri, USA	長崎健 (大阪市大)	HVJ-E/Importin-beta Hybrid for Efficient Gene Delivery (P)	6/2/05
34	32nd Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society	Miami Beach, Florida, USA	長崎健 (大阪市大)	Expression Efficiency of Importin b/Polyplex Conjugate Incorporated into HVJ-E (O)	6/20/05
35	11th Asian Chemical Congress	Korea, Seoul	新海征治 (九大)	Creation and Function of Helical Superstructures (O)	8/22/05
36	The 3rd International Symposium on Calix-Supramolecular Chem.	Korea, Seoul	新海征治 (九大)	Signal Transduction through the Molecular Recognition (O)	8/25/05
37	3rd International Nanomedicine and Drug Delivery Symposium	Univ. of Maryland, Baltimore, MD, USA	長崎健 (大阪市大)	ENHANCED NUCLEAR IMPORT OF PLASMID DNA AND INCREASED EXOGENOUS GENE EXPRESSION USING STREPTAVIDIN-FUSED IMPORTIN-b (P)	9/26/05
38	Pacificchem 2005	米国、Hawaii、Honolulu	新海征治 (九大)	Molecular transcription for creation of novel superstructures and functions (O)	12/19/05
39			櫻井和朗 (北九大)	Hierachiral structure of organogels explored with synchrotron SAXS and application to controlled release of DNA. (O)	1/24/06

40			新海征治 (九大)	Schizophyllan (β -1,3-glucan) as a one-dimensional host for DNA/RNA, SWNTs and nanoparticles (O)	1/27/06
41			櫻井和朗 (北九大)	Polysaccharide carrier for immunostimulatory CpG DNAs to enhance cytokine secretion. (O)	6/1/06
42	Lund University- Inauguration Lectures in Organic Chemistry	Sweden, Lund	新海征治 (九大)	Molecular Design of Synthetic Receptors with Dynamic, Imprinting and Allosteric Functions (I)	6/5/06
43	International Symposium on Organic Chem. at the Interface to Biology	Copenhagen, Denmark	新海征治 (九大)	Creation of Helical Superstructures from Molecular Assemblies, Inorganic Compounds and Polysaccharides (I)	6/27/06
44	第9回アメリカ遺伝子治療学会	米国、 メリーランド、 ボルチモア	長崎健 (大阪市大)	Enhanced Nuclear Import and Transfection Efficiency by Disaccharide-Modified PEIs (P)	7/24/06
45	MacKnight 教授のメモリアルシンポジウム	米国、 マサチューセッツ、 アマハースト	櫻井和朗 (北九大)	Molecular Design of a Low Birefringence and High Reflective-Index Polyester for Optical Lenses (I)	7/25/06
46	Joint International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular ISMSC2006	Victoria, Canada	新海征治 (九大)	Molecular Orientation of Polymeric Materials by Allosteric Aligners and Polysaccharide Hosts (O)	7/25/06
47			長崎健 (大阪市大)	Improvement of Cationic Lipid-Mediated Gene Expression by Photo-Induced Membrane (P)	12/19/05
48	33rd Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society	Vienna, Austria	嶋田直彦 (北九大)	Delivery of CpG DNA Using a Natural beta-(1-3)-D-Glucan Schizophyllan (P)	1/24/06
49			櫻井和朗 (北九大)	Differentiation and Control of Antisense Oligonucleotides Delivery Using PEG and RGD Hybridized β -(1→3)-Glucan Schizophyllan (O)	1/27/06
50	2006 Osaka Univ/LANL International Workshop on "The 2nd Nanoelectronics and Dynamics of DNA"	米国、ハワイ	櫻井和朗 (北九大)	Novel DNA-polysaccharide Triple Helix and Its Application to A Gene Carrier (I)	8/21/06
51			武田陽一 (北九大)	Polysaccharide Nano Gel Encapsulating DNA/polycation complexes for Gene Delivery (P)	9/9/06
52	232nd ACS National Meeting	米国、 San Francisco,	長崎健 (大阪市大)	Mechanism of glycofection: Enhanced nuclear import of plasmid DNA complex with disaccharide-conjugated poly(ethylenimine)s (P)	9/12/06
53			櫻井和朗 (北九大)	Delivery of antisense DNA to nuclear telomere RNA by use of a natural polysaccharide of schizophyllan (O)	9/14/06
54	2nd International Congress on Bio-Nano-Interface	Stuttgart, Germany	新海征治 (九大)	How Can We Integrate "Intelligence" into Molecular Systems? (I)	10/10/06
55	第5回アジアバイオマテリアルシンポジウム	中国, アモイ	柿本真司 (大阪市大)	Enhancement of transfection efficiency by dual ligands-mediated polymeric gene delivery (P)	11/14/06

(3) 特許出願

合計 50 件 (国内 45 件、PCT 5 件)。

但し、ICORP 時に出願した関連特許 4 件 (国内 2 件、PCT 2 件) を含む。

各件毎の概要を No.、出願番号(出願日)、公開番号(公開日)、特許番号(登録日) / 「発明名称」 / 出願人(持分%) / 発明者 の順に記載。

- 1 PCT/JP00/07875(2000/11/9) WO01/034207(2001/5/17)
「遺伝子キャリアー」
JST(70)、三井製糖(15)、カネボウ(15)
櫻井和朗、新海征治、木村太郎、田畑けん吾、甲元一也、オリバー・グロンヴァルト
- 2 特願 2001-339199(2001/11/5) 特開 2003-137904(2003/5/14)
「マトリックスとの結合サイトを有する多糖」
JST(75)、三井製糖(15)、福岡県(10)
木村太郎、新海征治、櫻井和朗、甲元一也、水雅美
- 3 特願 2001-357095(2001/11/22) 特開 2003-035704(2003/2/7) 特許 3845675(2006/9/1)
「核酸分離剤」
JST(75)、三井製糖(15)、福岡県(10)
木村太郎、新海征治、櫻井和朗、甲元一也、水雅美
- 4 PCT/JP02/02228(2002/3/11) WO02/072152(2002/9/19) オーストラリア特許 2002237559
「多糖を利用する遺伝子キャリアーとその製造方法」
(2007/2/8)
JST(80)、三井製糖(10)、福岡県(10)
櫻井和朗、水雅美、甲元一也、新海征治、木村太郎
- 5 特願 2002-272938(2002/9/19) 特開 2004-107272(2004/4/8)
「遺伝子治療剤」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、櫻井和朗、甲元一也、沼田宗典、松本貴博
- 6 特願 2003-052508(2003/2/28) 特開 2004-261024(2004/9/24)
「ペプチド修飾多糖類を用いる遺伝子治療剤」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、櫻井和朗、甲元一也、沼田宗典、松本貴博
- 7 特願 2003-136876(2003/5/15) PCT 出願へ(No.19)
「免疫刺激剤」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、櫻井和朗、甲元一也、沼田宗典、松本貴博
- 8 特願 2003-127783(2003/5/6) 特開 2004-331758(2004/11/25)
「側鎖調整 β -1,3-グルカンと核酸の複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、櫻井和朗、甲元一也
- 9 特願 2003-317698(2003/9/10) 特開 2005-080598(2005/3/31)
「 β -1,3-グルカン誘導体を用いるプラスミド DNA の導入法」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、長崎健、水雅美、佐藤琢、甲元一也、北條雅也、宇野篤
- 10 特願 2003-336720(2003/9/10) 特開 2005-106489(2005/3/31)
「G 因子リムルス反応を利用する β -1,3-グルカンまたは核酸の測定法」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、穴田貴久、水雅美、櫻井和朗、甲元一也

- 11 特願 2003-339569 (2003/9/30) 特開 2005-104762 (2005/4/21)
 「 β -1,3-グルカンを用いるカーボンナノチューブの可溶化方法」
 JST(85)、三井製糖(15)
 新海征治、沼田宗典、水雅美、甲元一也、穴田貴久、朝井雅剛
- 12 特願 2003-352959 (2003/10/10) 特開 2005-112828 (2005/4/28)
 「核酸の分離法」
 福岡県
 木村太郎
- 13 特願 2003-396585 (2003/10/10) 特開 2005-151891 (2005/4/28)
 細胞認識糖側鎖を持つ多糖系遺伝子キャリアー
 JST(85)、三井製糖(15)
 新海征治、水雅美、甲元一也、長谷川輝明、櫻井和朗
- 14 特願 2004-007810 (2004/1/15) 特開 2005-200531 (2005/7/28)
 「6-アミノ-6-デオキシキトサン、その製造方法およびそれより成る核酸導入剤」
 JST
 新海征治、坂入信夫、長崎健、佐藤琢
- 15 特願 2004-066606 (2004/3/10) 特開 2005-255750 (2005/9/22)
 「ポリエチレングリコールまたはポリプロピレングリコール修飾 β -1,3-グルカン系遺伝子キャリアー」
 JST(85)、三井製糖(15)
 新海征治、水雅美、櫻井和朗、甲元一也、穴田貴久、狩長亮二
- 16 特願 2004-016955 (2004/3/10) 特開 2005-204612 (2005/9/22)
 「新規な遺伝子導入法」
 JST(85)、三井製糖(15)
 新海征治、水雅美、櫻井和朗、穴田貴久、甲元一也
- 17 特願 2004-039322 (2004/2/17) 特開 2005-229815 (2005/9/2)
 「核内移行性核酸構造体」
 JST
 新海征治、長崎健、川津猛、立花太郎
- 18 特願 2004-138260 (2004/5/7) PCT 出願へ(No.32)
 「細胞またはタンパク質を認識する機能性カーボンナノチューブの複合体」
 JST(85)、三井製糖(15)
 新海征治、水雅美、長谷川輝明、沼田宗典、藤澤友久、櫻井和朗
- 19 PCT/JP2004/06793 (2004/5/13)
 「免疫刺激剤」
 JST(85)、三井製糖(15)
 新海征治、水雅美、櫻井和朗、甲元一也、沼田宗典、松本貴博
- 20 特願 2004-204286 (2004/7/12) PCT 出願へ(No.34)
 「核酸構造体」
 JST
 新海征治、長崎健、川津猛、柿本真司
- 21 特願 2004-252009 (2004/8/31) 特開 2006-66913 (2006/3/16)
 「ハイブリッド多糖系キャリアーを用いる核酸類の導入方法」
 JST(85)、三井製糖(15)
 新海征治、水雅美、櫻井和朗、狩長亮二、穴田貴久、甲元一也、沼田宗典

- 22 特願 2004-321757(2004/11/5) 特開 2006-131735(2006/3/16)
「ポリアニリン／ β -1,3-グルカン複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、沼田宗典、水雅美、長谷川輝明
- 23 特願 2004-332892(2004/11/17) PCT 出願へ(No.34)
「核内移行促進遺伝子導入法」
JST
新海征治、長崎健、川津猛
- 24 特願 2004-349277(2004/12/2) 特開 2006-160770(2006/6/22)
「ファイバー状導電性ポリマーとその製造方法」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、長谷川輝明、沼田宗典、李春
- 25 特願 2005-20532(2005/1/28) 特開 2006-205302(2006/8/10)
「金属ナノ粒子／多糖複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、ベ・アヒヨン、沼田宗典、長谷川輝明
- 26 特願 2005-59838(2005/3/3) 特開 2006-241334(2006/9/14)
「らせん状導電性高分子ナノワイヤー／多糖複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、沼田宗典、李春
- 27 特願 2005-66550(2005/3/10) 特開 2006-246766(2006/9/21)
「外部遺伝子導入用ベクター」
JST
新海征治、長崎健、志賀敏記
- 28 特願 2005-65127(2005/3/9) 特開 2006-248819(2006/9/21)
「金属酸化物ファイバー／多糖複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、沼田宗典、長谷川輝明
- 29 特願 2005-67083(2005/3/10) 特開 2006-248973(2006/9/21)
「多糖を一次元ホストとして用いたファイバー状ポルフィリン集合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、長谷川輝明、藤澤友久、沼田宗典
- 30 特願 2005-97147(2005/3/30) 特開 2006-271292(2006/10/12)
「メッセンジャーRNAの分離方法」
JST(50)、福岡県(50)
新海征治、木村太郎、櫻井和朗
- 31 特願 2005-261634(2005/9/9) 特開 2007-070307(2007/3/22)
「免疫刺激性複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、櫻井和朗、穴田貴久、岡田尚子、三成寿作
- 32 PCT/JP2005/08352(2005/5/6)
「多糖／カーボンナノチューブ複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、水雅美、長谷川輝明、沼田宗典、藤澤友久、櫻井和朗
- 33 特願 2005-194612(2005/7/4) 特開 2007-006849(2007/1/18)
「6-アミノ-6-デオキシキトサン誘導体から成る核酸導入剤」
JST
新海征治、長崎健、佐藤琢、狩野弘志

- 34 PCT/JP2005/12762(2005/7/11)
「核酸構造体」
JST
新海征治、長崎健、川津猛、柿本真司
- 35 特願 2006-062048(2006/3/8)
「 β -1,3-グルカン／色素分子複合体とその製造方法」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、為末真吾、広瀬良治、原口修一、藤澤友久、沼田宗典
- 36 特願 2006-063574(2006/3/9) 国内優先権出願へ(No.45)
「両親媒性高分子複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、沼田宗典、広瀬良治
- 37 特願 2006-065543(2006/3/10)
「水溶性フラー／多糖複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、池田篤志、広瀬良治、菊池純一、沼田宗典
- 38 特願 2006-117343(2006/4/21)
「金属ナノワイヤー」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、山田淳、広瀬良治、ベ・アヒヨン、沼田宗典
- 39 特願 2006-144929(2006/5/25)
「核酸／多糖／カーボンナノチューブ複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、沼田宗典、広瀬良治、櫻井和朗
- 40 特願 2006-144930(2006/5/25)
「高分子による細胞の可視化」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、沼田宗典、広瀬良治、李春
- 41 特願 2006-287855(2006/10/23)
「アリールメチルアミン誘導体およびその塩ならびにそれを構成成分とする薬物担体」
JST(14)、テルモ(30)、北九州 TLO(56)
櫻井和朗、楠木翔太、濱田衣美、工藤泰也、嶋田直彦、武田陽一
- 42 特願 2006-282148(2006/10/17)
「Th2 細胞関連疾患の予防等に用いられる核酸／多糖複合体」
JST(90)、大阪大学(10)
新海征治、櫻井和朗、嶋田直彦、審良静男、石井健
- 43 特願 2007-48690(2007/2/28)
「イオン性カードラン誘導体および該カードラン誘導体と疎水性高分子から成る複合体」
JST
新海征治、池田将、沼田宗典、長谷川輝明、杉川幸太
- 44 特願 2006-279565(2006/10/1)
「ゲル形成用組成物」
JST(40)、神奈川科学技術アカデミー(60)
長崎健、横山昌幸、村上義彦、西田博
- 45 特願 2007-58271(2007/3/8)
「両親媒性高分子複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、沼田宗典、広瀬良治

- 46 特願 2007-59771(2007/3/9)
「 β -1,3-グルカン／カルボラン複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、為末真吾、広瀬良治、長崎健、櫻井和朗、沼田宗典、
- 47 特願 2007-59772(2007/3/9)
「シリカで被覆された β -1,3-グルカン／導電性高分子複合体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、原口修一、広瀬良治、櫻井和朗、沼田宗典、
- 48 特願 2007-59773(2007/3/9)
「光電変換素子」
JST
新海征治、藤澤友久、沼田宗典、
- 49 特願 2007-59774(2007/3/9)
「イオン性カーボラン誘導体を用いて得られる疎水性高分子のナノ構造体」
JST
新海征治、杉川幸太、沼田宗典、
- 50 特願 2007-59775(2007/3/9)
「 β -1,3-グルカンヒジボロン酸化合物を用いて得られる疎水性高分子のナノ構造体」
JST(85)、三井製糖(15)
新海征治、為末真吾、広瀬良治、櫻井和朗、沼田宗典、

(4) 受賞等

- ① Vielberth Lectureship 賞（ドイツ、レーゲンスブルグ大学）：新海征治（九州大学）
2002年5月13日
- ② 第17回生体機能関連化学シンポジウム・生体機能関連化学部会講演賞：長崎健（大阪市立大学）
2002年9月25日
- ③ 第18回生体機能関連化学部会・第7回バイオテクノロジー部会合同シンポジウム
講演賞：木村太郎（福岡県工業技術センター・生食研）
2003年10月12日
- ④ 日本化学会賞（第84春季年会）：新海征治（九州大学）
2004年3月26日
- ⑤ 日本化学会欧文誌編集委員会・BCSJ賞：水雅美ほか（北九州市立大学）
2004年4月12日
- ⑥ 遺伝子デリバリー研究会・第4回シンポジウム奨励賞：狩長亮二（北九州市立大学）
2004年5月14日
- ⑦ 紫綬褒章：新海征治（九州大学）
2004年11月3日
- ⑧ 第63回西日本文化賞：新海征治（九州大学）
2004年11月3日
- ⑨ 遺伝子デリバリー研究会・5周年記念国際シンポジウム奨励賞：甚田知美（大阪市立大学）
2005年5月20日
- ⑩ 英国 Royal Society of Chemistry が発行する Chemical Communication 誌の Future Article において、もっともアクセスされた論文のトップ 10 に下記論文が選ばれた。
Kazuo Sakurai, Kazuya Uezu, Munenori Numata, Teruaki Hasegawa, Chun Li, Kenji Kaneko and Seiji Shinkai; “ β -1,3-Glucan polysaccharides as novel one-dimensional hosts for DNA/RNA, conjugated polymers and nanoparticles”; Chem. Commun., 35, 4383-4398(2005)
- ⑪ 日本化学会第86春季年会講演奨励賞：佐藤琢（大阪市立大学）
2006年3月27日
- ⑫ 日本化学会第43回化学関連支部合同九州大会高分子部門・九州地区若手奨励賞：福田直也（北九州私立大学）
2006年7月8日
- ⑬ 第47回東レ科学技術賞：新海征治（九州大学）
2007年3月19日

